(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum 15. Mai 2003 (15.05.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer WO 03/040180 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07K 14/34, C12P 13/08, C12Q 1/68, C12N 15/63, 15/77, 1/21, C12P 1/04
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/12138
- (22) Internationales Anmeldedatum:

31. Oktober 2002 (31.10.2002)

- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 101 54 180.5 5. November 2001 (05.11.2001) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; 67056 Ludwigshafen (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): ZELDER, Oskar [DE/DE]; Franz-Stützel-Str. 8, 67346 Speyer (DE). POMPEJUS, Markus [DE/DE]; Wenjenstr. 21, 67251 Freinsheim (DE). SCHRÖDER, Hartwig [DE/DE]; Benzstr. 4, 69226 Nussloch (DE). KRÖGER, BURKHARD [DE/DE]; Im Waldhof 1, 67117 Limburgerhof (DE). KLOPPROGGE, Corinna [DE/DE]; Diemersteinstrasse 3, 67065 Ludwigshafen (DE). HABERHAUER, Gregor [DE/DE]; Moselstrasse 42, 67117 Limburgerhof (DE).

- (74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGE-SELLSCHAFT; 67056 Ludwigshafen (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, 1L, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

 ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.



- (54) Title: GENES ENCODING FOR GENETIC STABILITY, GENE EXPRESSION AND FOLDING PROTEINS
- (54) Bezeichnung: GENE DIE FÜR GENETISCHE STABILITÄTS-, GENEXPRESSIONS- UND FALTUNGSPROTEINE CO-DIEREN
- (57) Abstract: The invention relates to novel nucleic acid molecules, to the use thereof in the construction of genetically improved microorganisms and to a method for producing line chemical products, in particular amino acids, by means of said genetically improved microorganisms.
- (57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft neue Nukleinsäuremoleküle, deren Verwendung zur Konstruktion von gentechnisch verbesserten Mikroorganismen und Verfahren zur Herstellung von Feinehemikalien, insbesondere Aminosäuren mit Hilfe dieser gentechnisch verbesserten Mikroorganismen.

Gene die für genetische Stabilitäts-, Genexpressions- und Faltungsproteine codieren

5 Hintergrund der Erfindung

Bestimmte Produkte und Nebenprodukte von natürlich vorkommenden Stoffwechselprozessen in Zellen werden in vielen Industriezweigen verwendet, einschließlich der Nahrungsmittel-, Futtermittel-, 10 Kosmetik- und pharmazeutischen Industrie. Diese Moleküle, die gemeinsam als "Feinchemikalien" bezeichnet werden, umfassen organische Säuren, sowohl proteinogene als auch nicht-proteinogene Aminosäuren, Nukleotide und Nukleoside, Lipide und Fettsäuren, Diole, Kohlehydrate, aromatische Verbindungen, Vitamine und Co-15 faktoren sowie Enzyme. Ihre Produktion erfolgt am besten mittels Anzucht von Bakterien im Großmaßstab, die entwickelt wurden, um große Mengen des jeweils gewünschten Moleküls zu produzieren und sezernieren. Ein für diesen Zweck besonders geeigneter Organismus ist Corynebacterium glutamicum, ein gram-positives, nicht-patho-20 genes Bakterium. Über Stammselektion ist eine Reihe von Mutantenstämmen entwickelt worden, die ein Sortiment wünschenswerter Verbindungen produzieren. Die Auswahl von Stämmen, die hinsichtlich der Produktion eines bestimmten Moleküls verbessert sind, ist jedoch ein zeitaufwendiges und schwieriges Verfahren.

Zusammenfassung der Erfindung

25

Diese Erfindung stellt neuartige Nukleinsäuremoleküle bereit, die sich zur Identifizierung oder Klassifizierung von Corynebacterium 30 glutamicum oder verwandten Bakterienarten verwenden lassen. C. glutamicum ist ein gram-positives, aerobes Bakterium, das gewöhnlich in der Industrie für die Produktion im Großmaßstab einer Reihe von Feinchemikalien und auch zum Abbau von Kohlenwasserstoffen (bspw. beim Überlaufen von Rohöl) und zur Oxidation von 35 Terpenoiden gemeinhin verwendet wird. Die Nukleinsäuremoleküle können daher zum Identifizieren von Mikroorganismen eingesetzt werden, die sich zur Produktion von Feinchemikalien, bspw. durch Fermentationsverfahren, verwenden lassen. C. glutamicum selbst ist zwar nicht-pathogen, jedoch ist es mit anderen Corynebacteri-40 um-Arten, wie Corynebacterium diphtheriae (dem Erreger der Diphtherie) verwandt, die bedeutende Pathogene beim Menschen sind. Die Fähigkeit, das Vorhandensein von Corynebacterium-Arten zu identifizieren, kann daher auch eine signifikante klinische Bedeutung haben, z.B. bei diagnostischen Anwendungen. Diese Nu-45 kleinsäuremoleküle können zudem als Bezugspunkte zur Kartierung

des C. glutamicum-Genoms oder von Genomen verwandter Organismen dienen.

Diese neuen Nukleinsäuremoleküle codieren Proteine, die hier als 5 Genstabilitäts-, Genexpressions- oder Proteinsekretions-/Faltungs- (SES-) Proteine bezeichnet werden. Diese SES-Proteine können bspw. eine an der Reparatur oder Rekombination von DNA, Transposition von genetischem Material, Expression von Genen (d. h. die an der Transkription oder Translation beteiligt sind), Protein-10 faltung oder Proteinsekretion in C. glutamicum beteiligte Funktion ausüben. Aufgrund der Verfügbarkeit von in Corynebacterium glutamicum verwendbaren Klonierungsvektoren, wie bspw. offenbart in Sinskey et al., US-Patent Nr. 4 649 119, und von Techniken zur genetischen Manipulation von C. glutamicum und den verwandten 15 Brevibacterium-Arten (z.B. lactofermentum) (Yoshihama et al., J. Bacteriol. 162:591-597 (1985); Katsumata et al., J. Bacteriol. 159:306-311 (1984); und Santamaria et al. J. Gen. Microbiol. 130:2237-2246 (1984)), lassen sich die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle zur genetischen Manipulation dieses Organismus ver-20 wenden, damit er ein effizienterer Produzent einer oder mehrerer Feinchemikalien wird. Diese verbesserte Produktion oder Effizienz der Produktion einer Feinchemikalie kann aufgrund einer direkten Auswirkung der Manipulation eines erfindungsgemäßen Gens oder aufgrund einer indirekten Auswirkung einer solchen Manipulation 25 erfolgen.

Es gibt eine Reihe von Mechanismen, durch die die Veränderung eines erfindungsgemäßen SES-Proteins die Ausbeute, Produktion und/ oder Effizienz der Produktion einer Feinchemikalie aus einem C. 30 glutamicum-Stamm, der dieses veränderte Protein enthält, direkt beeinflussen kann. Zum Beispiel sollte die Modulation von Proteinen, die direkt an der Transkription oder Translation beteiligt sind (z.B. Polymerasen oder Ribosomen), so daß ihre Anzahl oder Aktivität gesteigert wird, die zelluläre Transkription oder 35 Translation (oder die Geschwindigkeiten dieser Prozesse) insgesamt steigern. Diese erhöhte zelluläre Genexpression sollte solche Proteine umfassen, die an der Feinchemikalienbiosynthese beteiligt sind, so daß eine Steigerung der Ausbeute, Produktion oder Effizienz der Produktion einer oder mehrerer gewünschten 40 Verbindungen erfolgen kann. Modifikationen der Transkriptions-/Translations-Proteinmaschinerie von C. glutamicum, so daß die Regulation dieser Proteine verändert wird, kann auch die erhöhte Expression von Genen, die an der Produktion von Feinchemikalien beteiligt sind, ermöglichen. Die Modulation der Aktivität

45 einer Reihe von Proteinen, die an der Peptidfaltung beteiligt sind, kann eine Erhöhung der Gesamtproduktion korrekt gefalteter Moleküle in der Zelle ermöglichen, wodurch die Möglichkeit erhöht

3

wird, daß gewünschte Proteine (z.B. Feinchemikalienbiosynthese-Proteine) richtig funktionieren. Ferner kann es durch Mutation von an der Sekretion aus C. glutamicum beteiligten Proteinen, so daß ihre Anzahl oder Aktivität erhöht ist, möglich sein, die Se-5 kretion einer Feinchemikalie (z.B. eines Enzyms) aus Zellen in der Fermentationskultur zu erhöhen, aus der sie leicht gewonnen werden kann.

Die genetische Modifikation der erfindungsgemäßen SES-Moleküle 10 kann auch zu einer indirekten Modulation der Produktion einer oder mehrerer Feinchemikalien führen. Beispielsweise kann man durch Erhöhen der Anzahl oder Aktivität eines erfindungsgemäßen DNA-Reparatur- oder -Rekombinationsproteins die Fähigkeit der Zelle, eine DNA-Schädigung zu entdecken und zu reparieren, erhö-15 hen. Dies sollte die Fähigkeit der Zelle, ein mutiertes Gen in ihrem Genom zu halten, wirksam erhöhen und dadurch die Wahrscheinlichkeit erhöhen, daß ein gentechnologisch in C. glutamicum eingebrachtes Transgen (das z.B. ein Protein codiert, das die Biosynthese einer Feinchemikalie steigert) nicht während der 20 Züchtung des Mikroorganismus verloren geht. Dagegen kann es durch Verringern der Anzahl oder Aktivität eines oder mehrerer DNA-Reparatur- oder -Rekombinationsproteine möglich sein, die genetische Instabilität des Organismus zu steigern. Diese Manipulationen sollten die Fähigkeit des Organismus, durch Mutagenese modi-25 fiziert zu werden, verbessern, ohne daß die eingebrachte Mutation berichtigt wird. Das gleiche gilt für Proteine, die an der Transposition oder Umlagerung genetischer Elemente in C. glutamicum beteiligt sind (z.B. Transposons). Durch Mutagenese dieser Proteine, so daß ihre Anzahl oder Aktivität entweder gesteigert oder 30 verringert wird, ist es möglich, gleichzeitig die genetische Stabilität des Mikroorganismus zu steigern oder zu verringern. Dies hat eine bedeutende Auswirkung darauf, daß eine andere Mutation in C. glutamicum eingebracht und die eingebrachte Mutation beibehalten werden kann. Transposons bieten ebenfalls einen geeigneten 35 Mechanismus, durch den die Mutagenese von C. glutamicum durchgeführt werden kann; die Duplikation gewünschter Gene (z.B. von Feinchemikalienbiosynthese-Genen) läßt sich leicht mittels Transposonmutagenese durchführen, wie auch die Disruption ungewünschter Gene (z.B. Gene, die am Abbau gewünschter Feinchemikalien be-40 teiligt sind).

Durch die Modulation eines oder mehrerer Proteine (z.B. Sigma-Faktoren), die an der Regulation der Transkription oder Translation in Reaktion auf besondere Umweltbedingungen beteiligt sind, 45 kann es möglich sein, die Zelle daran zu hindern, daß sie die Proteinsynthese unter ungünstigen Umweltbedingungen, wie man sie in einer Fermenterkultur im Großmaßstab antrifft, verlangsamt

oder beendet. Dies sollte zu erhöhter Genexpression führen, was wiederum die gesteigerte Biosynthese gewünschter Feinchemikalien unter diesen Bedingungen ermöglichen kann. Die Mutagenese von an Sekretionssystemen beteiligten Proteinen kann zu modulierten 5 Sekretionsraten führen. Viele dieser sezernierten Proteine haben

- Funktionen, die für die Zellebensfähigkeit wichtig sind (z.B. Zelloberflächenproteasen oder -Rezeptoren). Eine Änderung des Sekretionswegs, so daß diese Proteine leichter an ihren extrazellulären Ort transportiert werden, kann die Gesamtlebensfähigkeit
- 10 der Zelle erhöhen und somit zu höheren Zahlen an C. glutamicumZellen führen, die Feinchemikalien während eine Züchtung im Großmaßstab produzieren können. Ferner ist der Sekretionsapparat
 (z.B. das sec-System) bekanntlich auch an der Insertion von integralen Membranproteinen (z.B. Poren, Kanälen oder Transportern)
- 15 in die Membran beteiligt. So kann die Modulation der Aktivität von Proteinen, die an der Proteinsekretion aus *C. glutamicum* beteiligt sind, die Fähigkeit der Zelle zur Ausscheidung von Abfallprodukten oder zum Import notwendiger Metabolite beeinflussen. Ist die Aktivität dieser sekretorischen Proteine erhöht,
- 20 kann ebenfalls die Fähgikeit der Zelle zur Produktion von Feinchemikalien erhöht sein. Ist die Aktivität dieser sekretorischen Proteine verringert, können nicht genügend Nährstoffe zur Unterstützung der Überproduktion gewünschter Verbindungen vorhanden sein, oder Abfallprodukte können diese Biosynthese stören.

25

Die Erfindung stellt neue Nukleinsäuremoleküle bereit, die Proteine codieren, die hier als SES-Proteine bezeichnet werden und bspw an der Reparatur oder Rekombination von DNA, Transposition von genetischem Material, Expression von Genen (d. h. den Transkriptions- oder Translationsprozessen), Proteinfaltung oder Proteinsekretion in Corynebacterium glutamicum beteiligt sein können. Nukleinsäuremoleküle, die ein SES-Protein codieren, werden hier als SES-Nukleinsäuremoleküle bezeichnet. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist ein SES-Protein an der Verbesserung oder Verringerung der genetischen Stabilität in C. glutamicum, der Expression von Genen (z.B. bei der Transkription oder Translation) oder der Proteinfaltung in diesem Organismus oder an der Proteinsekretion aus C. glutamicum beteiligt. Beispiele für solche Pro-

40 codiert werden.

Ein Aspekt der Erfindung betrifft folglich isolierte Nukleinsäuremoleküle (bspw. cDNAs), umfassend eine Nukleotidsequenz, die ein SES-Protein oder biologisch aktive Abschnitte davon codiert,

teine sind diejenigen, die von den in Tabelle 1 angegebenen Genen

45 sowie Nukleinsäurefragmente, die sich als Primer oder Hybridisierungssonden zum Nachweis oder zur Amplifikation von SES-codierender Nukleinsäure (bspw. DNA oder mRNA) eignen. Bei besonders behier beschriebenen SES-Aktivitäten.

WO 03/040180 PCT/EP02/12138

5

vorzugten Ausführungsformen umfaßt das isolierte Nukleinsäuremolekül eine der in Anhang A aufgeführten Nukleotidsequenzen oder
den codierenden Bereich einer dieser Nukleotidsequenzen oder ein
Komplement davon. In anderen bevorzugten Ausführungsformen co5 diert das isolierte Nukleinsäuremolekül eine der in Anhang B aufgeführten Aminosäuresequenzen. Die bevorzugten erfindungsgemäßen
SES-Proteine besitzen ebenfalls vorzugsweise mindestens eine der

10 Als Anhang A werden im folgenden die Nukleinsäuresequenzen des Sequenzprotokolls zusammen mit den in Tabelle 1 beschriebenen Sequenzveränderungen an der jeweiligen Position definiert.

Als Anhang B werden im folgenden die Polypeptidsequenzen des Se-15 quenzprotokolls zusammen mit den in Tabelle 1 beschriebenen Sequenzveränderungen an der jeweiligen Position definiert.

Bei einer weiteren Ausführungsform ist das isolierte Nukleinsäuremolekül mindestens 15 Nukleotide lang und hybridisiert unter stringenten Bedingungen an ein Nukleinsäuremolekül, das eine Nukleotidsequenz aus Anhang A umfaßt. Das isolierte Nukleinsäuremolekül entspricht vorzugsweise einem natürlich vorkommenden Nukleinsäuremolekül. Die isolierte Nukleinsäure codiert stärker bevorzugt ein natürlich vorkommendes C. glutamicum-SES-Protein oder einen biologisch aktiven Abschnitt davon.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft Vektoren, bspw.
rekombinante Expressionsvektoren, die die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle enthalten, und Wirtszellen, in die diese Vek30 toren eingebracht worden sind. Bei einer Ausführungsform wird
diese Wirtszelle zur Herstellung eines SES-Proteins verwendet,
indem die Wirtszelle in einem geeigneten Medium gezüchtet wird.
Das SES-Protein kann dann aus dem Medium oder der Wirtszelle isoliert werden.

35

Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft einen genetisch veränderten Mikroorganismus, bei dem ein SES-Gen eingebracht oder verändert worden ist. Das Genom des Mikroorganismus ist bei einer Ausführungsform durch Einbringen mindestens eines erfindungsgemä40 ßen Nukleinsäuremoleküls verändert worden, das die mutierte SES-Sequenz als Transgen codiert. Bei einer anderen Ausführungsform ist ein endogenes SES-Gen im Genom des Mikroorganismus durch homologe Rekombination mit einem veränderten SES-Gen verändert, z.B. funktionell disruptiert, worden. Der Mikroorganismus gehört bei einer bevorzugten Ausführungsform zur Gattung Corynebacterium oder Brevibacterium, wobei Corynebacterium glutamicum besonders bevorzugt ist. Der Mikroorganismus wird in einer bevorzugten Aus-

6

führungsform auch zur Herstellung einer gewünschten Verbindung, wie einer Aminosäure, verwendet, wobei Lysin besonders bevorzugt ist.

- 5 Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft ein isoliertes SES-Protein oder einen Abschnitt, bspw. einen biologisch aktiven Abschnitt, davon. Das isolierte SES-Protein oder sein Abschnitt kann in einer bevorzugten Ausführungsform an der Reparatur oder Rekombination von DNA, Transposition von genetischem Material,
- 10 Genexpression (d. h. Transkriptions- oder Translationsprozessen),
 Proteinfaltung oder Proteinsekretion in Corynebacterium glutamicum teilnehmen. Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform
 ist das isolierte SES-Protein oder ein Abschnitt davon hinreichend homolog zu einer Aminosäuresequenz von Anhang B, so daß das
- 15 Protein oder sein Abschnitt die Fähigkeit behält, bspw. an der Reparatur oder Rekombination von DNA, Transposition von genetischem Material, Genexpression (d. h. Transkriptions- oder Translationsprozessen), Proteinfaltung oder Proteinsekretion in Corynebacterium glutamicum teilzunehmen.

20

- Eine weitere bevorzugte Ausführungsform sind Wirtszellen, die mehr als eine der in Anhang A beschriebenen Nukleinsäuremoleküle besitzen. Solche Wirtszellen lassen sich auf verschiedene dem Fachmann bekannte Wege herstellen. Beispielsweise können sie
- durch Vektoren, die mehrere der erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle tragen, transfiziert werden. Es ist aber auch möglich mit einem Vektor jeweils ein erfindungsgemäßes Nukleinsäuremolekül in die Wirtszelle einzubringen und deshalb mehrere Vektoren entweder gleichzeitig oder zeitlich abgestuft einzusetzen. Es können somit
- 30 Wirtszellen konstruiert werden, die zahlreiche, bis zu mehreren Hundert der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen tragen. Durch eine solche Akkumulation lassen sich häufig überadditive Effekte auf die Wirtszelle hinsichtlich der Feinchemikalien-Produktivität erzielen.

35

- Die Erfindung stellt zudem ein isoliertes SES-Proteinpräparat bereit. Das SES-Protein umfaßt bei bevorzugten Ausführungsformen eine Aminosäuresequenz aus Anhang B. Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform betrifft die Erfindung ein isoliertes Vollän-
- 40 genprotein, das zu einer vollständigen Aminosäuresequenz aus Anhang B (welche von einem offenen Leseraster in Anhang A codiert wird) im wesentlichen homolog ist.

Das SES-Polypeptid oder ein biologisch aktiver Abschnitt davon 45 kann mit einem Nicht-SES-Polypeptid funktionsfähig verbunden werden, damit ein Fusionsprotein entsteht. Dieses Fusionsprotein hat bei bevorzugten Ausführungsformen eine andere Aktivität als das

SES-Protein allein. Bei anderen bevorzugten Ausführungsformen nimmt dieses Fusionsprotein an der Reparatur oder Rekombination von DNA, Transposition von genetischem Material, Genexpression (d. h. Transkriptions- oder Translationsprozessen), Proteinfaltung oder Proteinsekretion in Corynebacterium glutamicum teil. Die Integration dieses Fusionsproteins in eine Wirtszelle moduliert bei besonders bevorzugten Ausführungsformen die Produktion einer gewünschten Verbindung von der Zelle.

10 Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung einer Feinchemikalie. Das Verfahren sieht die Anzucht einer Zelle vor, die einen Vektor enthält, der die Expression eines erfindungsgemäßen SES-Nukleinsäuremoleküls bewirkt, so daß eine Feinchemikalie produziert wird. Dieses Verfahren umfaßt bei einer bevorzugten Ausführungsform zudem den Schritt der Gewinnung einer Zelle, die einen solchen Vektor enthält, wobei die Zelle mit einem Vektor transfiziert ist, der die Expression einer SES-Nukleinsäure bewirkt. Dieses Verfahren umfaßt bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform zudem den Schritt, bei dem die Feinze chemikalie aus der Kultur gewonnen wird. Die Zelle gehört bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform zur Gattung Corynebacterium oder Brevibacterium.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft Verfahren zur Modula-25 tion der Produktion eines Moleküls von einem Mikroorganismus. Diese Verfahren umfassen das Zusammenbringen der Zelle mit einer Substanz, die die SES-Proteinaktivität oder die SES-Nukleinsäure-Expression moduliert, so daß eine zellassoziierte Aktivität verglichen mit der gleichen Aktivität bei Fehlen der Substanz verän-30 dert wird. Die Zelle wird bei einer bevorzugten Ausführungsform hinsichtlich einer oder mehrerer C. glutamicum-Prozesse moduliert, die an der genetischen Stabilität, Genexpression, Proteinfaltung oder Proteinsekretion beteiligt sind, so daß die Ausbeute, Produktion oder Effizienz der Produktion einer gewünschten 35 Feinchemikalien durch diesen Mikroorganismus verbessert wird. Die Substanz, die die SES-Proteinaktivität moduliert, kann eine Substanz sein, die die SES-Proteinaktivität oder die SES-Nukleinsäure-Expression stimuliert. Beispiele für Substanzen, die die SES-Proteinaktivität oder SES-Nukleinsäureexpression stimulieren, 40 umfassen kleine Moleküle, aktive SES-Proteine und Nukleinsäuren, die SES-Proteine codieren und in die Zelle eingebracht worden sind. Beispiele für Substanzen, die die SES-Aktivität oder -Expression hemmen, umfassen kleine Moleküle und SES-Antisense-Nukleinsäuremoleküle.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft Verfahren zur Modulation der Ausbeuten einer gewünschten Verbindung von einer Zelle, umfassend das Einbringen eines SES-Wildtyp- oder -Mutantengens in eine Zelle, das entweder auf einem gesonderten Plasmid bleibt 5 oder in das Genom der Wirtszelle integriert wird. Die Integration in das Genom kann zufallsgemäß oder durch homologe Rekombination erfolgen, so daß das native Gen durch die eingebrachte Kopie ersetzt wird, was die Produktion der gewünschten Verbindung von der zu modulierenden Zelle hervorruft. Diese Ausbeuten sind bei einer 10 bevorzugten Ausführungsform erhöht. Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die Chemikalie eine Feinchemikalie, die in einer besonders bevorzugten Ausführungsform eine Aminosäure ist. Diese Aminosäure ist in einer besonders bevorzugten Ausführungsform L-Lysin.

15

Eingehende Beschreibung der Erfindung

Die vorliegende Erfindung stellt SES-Nukleinsäure- und -Proteinmoleküle bereit, die an der Reparatur oder Rekombination von DNA, 20 Transposition von genetischem Material, Genexpression (d. h. Transkriptions- oder Translationsprozessen), Proteinfaltung oder Proteinsekretion in Corynebacterium glutamicum beteiligt sind. Die erfindungsgemäßen Moleküle könne zur Modulation der Produktion von Feinchemikalien von Mikroorganismen, wie C. glutamicum, 25 entweder direkt (z.B. wenn die Überexpression oder Optimierung der Aktivität eines an der Sekretion einer Feinchemikalie beteiligten Proteins (z.B. eines Enzyms) eine direkte Auswirkung auf die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion einer Feinchemikalie von den modifizierten C. glutamicum hat) oder 30 durch indirekte Auswirkung verwendet werden, die dennoch zu einer Erhöhung der Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der gewünschten Verbindung führt, (z.B. wenn die Modulation der Aktivität oder Kopienzahl eines C. glutamicum-DNA-Reparaturproteins zu Änderungen in der Fähigkeit des Mikroorganismus, die eingebrachte 35 Mutation aufrechtzuerhalten, was wiederum die Produktion einer oder mehrerer Feinchemikalien von diesem Stamm beeinflussen kann). Die Aspekte der Erfindung sind nachstehend weiter erläutert.

40 I. Feinchemikalien

Der Begriff "Feinchemikalie" ist im Fachgebiet bekannt und beinhaltet Moleküle, die von einem Organismus produziert werden und in verschiedenen Industriezweigen Anwendungen finden, wie bspw., 45 jedoch nicht beschränkt auf die pharmazeutische Industrie, die

Landwirtschafts- und Kosmetikindustrie. Diese Verbindungen umfassen organische Säuren, wie Weinsäure, Itaconsäure und Diaminopi-

melinsäure, sowohl proteinogene als auch nicht-proteinogene Aminosäuren, Purin- und Pyrimidinbasen, Nukleoside und Nukleotide (wie bspw. beschrieben in Kuninaka, A. (1996) Nucleotides and related compounds, S. 561-612, in Biotechnology Bd. 6, Rehm et al., 5 Hrsg. VCH: Weinheim und den darin enthaltenen Zitaten), Lipide, gesättigte und ungesättigte Fettsäuren (bspw. Arachidonsäure), Diole (bspw. Propandiol und Butandiol), Kohlehydrate (bspw. Hyaluronsäure und Trehalose), aromatische Verbindungen (bspw. aromatische Amine, Vanillin und Indigo), Vitamine und Cofaktoren (wie 10 beschrieben in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. A27, "Vitamins", S. 443-613 (1996) VCH: Weinheim und den darin enthaltenen Zitaten; und Ong, A.S., Niki, E. und Packer, L. (1995) "Nutrition, Lipids, Health and Disease" Proceedings of the UNESCO/Confederation of Scientific and Technological Associations 15 in Malaysia and the Society for Free Radical Research - Asien, abgehalten am 1.-3. Sept. 1994 in Penang, Malaysia, AOCS Press (1995)), Enzyme und sämtliche anderen von Gutcho (1983) in Chemi-

abgehalten am 1.-3. Sept. 1994 in Penang, Malaysia, AOCS Press (1995)), Enzyme und sämtliche anderen von Gutcho (1983) in Chemicals by Fermentation, Noyes Data Corporation, ISBN: 0818805086 und den darin angegebenen Literaturstellen beschriebenen Chemikalien. Der Metabolismus und die Verwendungen bestimmter Feinchemicals der Metabolismus der Met

A. Metabolismus und Verwendungen von Aminosäuren

kalien sind nachstehend weiter erläutert.

- 25 Die Aminosäuren umfassen die grundlegenden Struktureinheiten sämtlicher Proteine und sind somit für die normalen Zellfunktionen in allen Organismen essentiell. Der Begriff "Aminosäure" ist im Fachgebiet bekannt. Die proteinogenen Aminosäuren, von denen es 20 Arten gibt, dienen als Struktureinheiten für Proteine, in denen sie über Peptidbindungen miteinander verknüpft sind, wohingegen die nicht-proteinogenen Aminosäuren (von denen Hunderte bekannt sind) gewöhnlich nicht in Proteinen vorkommen (siehe Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. A2, S. 57-97 VCH: Weinheim (1985)). Die Aminosäuren können in der optischen D-
- 35 oder L-Konfiguration vorliegen, obwohl L-Aminosäuren gewöhnlich der einzige Typ sind, den man in natürlich vorkommenden Proteinen vorfindet. Biosynthese- und Abbauwege von jeder der 20 proteinogenen Aminosäuren sind sowohl bei prokaryotischen als auch eukaryotischen Zellen gut charakterisiert (siehe bspw. Stryer, L.,
- 40 Biochemistry, 3. Auflage, S. 578-590 (1988)). Die "essentiellen" Aminosäuren (Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan und Valin), so bezeichnet, weil sie aufgrund der Komplexität ihrer Biosynthese gewöhnlich mit der Ernährung aufgenommen werden müssen, werden durch einfache Bio-
- 45 synthesewege in die übrigen 11 "nichtessentiellen" Aminosäuren (Alanin, Arginin, Asparagin, Aspartat, Cystein, Glutamat, Glutamin, Glycin, Prolin, Serin und Tyrosin) umgewandelt. Höhere

Tiere besitzen die Fähigkeit, einige dieser Aminosäuren zu synthetisieren, jedoch müssen die essentiellen Aminosäuren mit der Nahrung aufgenommen werden, damit eine normale Proteinsynthese stattfindet.

5 Abgesehen von ihrer Funktion bei der Proteinbiosynthese sind diese Aminosäuren interessante Chemikalien an sich, und man hat entdeckt, daß viele bei verschiedenen Anwendungen in der Nahrungsmittel-, Futter-, Chemie-, Kosmetik-, Landwirtschafts- und 10 pharmazeutischen Industrie zum Einsatz kommen. Lysin ist nicht nur für die Ernährung des Menschen eine wichtige Aminosäure, sondern auch für monogastrische Tiere, wie Geflügel und Schweine. Glutamat wird am häufigsten als Geschmacksadditiv (Mononatriumglutamat, MSG) sowie weithin in der Nahrungsmittelindustrie ver-15 wendet, wie auch Aspartat, Phenylalanin, Glycin und Cystein. Glycin, L-Methionin und Tryptophan werden sämtlich in der pharmazeutischen Industrie verwendet. Glutamin, Valin, Leucin, Isoleucin, Histidin, Arginin, Prolin, Serin und Alanin werden in der pharmazeutischen Industrie und der Kosmetikindustrie verwendet. Threo-20 nin, Tryptophan und D-/L-Methionin sind weitverbreitete Futtermittelzusätze (Leuchtenberger, W. (1996) Amino acids - technical production and use, S. 466-502 in Rehm et al., (Hrsg.) Biotechnology Bd. 6, Kapitel 14a, VCH: Weinheim). Man hat entdeckt, daß sich diese Aminosäuren außerdem als Vorstufen für die Synthese 25 von synthetischen Aminosäuren und Proteinen, wie N-Acetylcystein, S-Carboxymethyl-L-cystein, (S)-5-Hydroxytryptophan und anderen in Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. A2, S. 57-97,

30 Die Biosynthese dieser natürlichen Aminosäuren in Organismen, die sie produzieren können, bspw. Bakterien, ist gut charakterisiert worden (für einen Überblick der bakteriellen Aminosäure-Biosynthese und ihrer Regulation s. Umbarger, H.E. (1978) Ann. Rev. Biochem. 47:533-606). Glutamat wird durch reduktive Aminierung von 35 α -Ketoglutarat, einem Zwischenprodukt im Citronensäure-Zyklus, synthetisiert. Glutamin, Prolin und Arginin werden jeweils nacheinander aus Glutamat erzeugt. Die Biosynthese von Serin erfolgt in einem Dreischritt-Verfahren, beginnt mit 3-Phosphoglycerat (einem Zwischenprodukt der Glykolyse) und ergibt nach Oxida-40 tions-, Transaminierungs- und Hydrolyseschritten diese Aminosäure. Cystein und Glycin werden jeweils aus Serin produziert, und zwar die erstere durch Kondensation von Homocystein mit Serin, und die letztere durch Übertragung des Seitenketten-β-Kohlenstoffatoms auf Tetrahydrofolat in einer durch Serin-Transhydroxy-45 methylase katalysierten Reaktion. Phenylalanin und Tyrosin werden aus den Vorstufen des Glykolyse- und Pentosephosphatweges, Eryt-

hrose-4-phosphat und Phosphoenolpyruvat, in einem 9-Schritt-Bio-

VCH, Weinheim, 1985 beschriebenen Substanzen eignen.

syntheseweg synthetisiert, der sich nur in den letzten beiden Schritten nach der Synthese von Präphenat unterscheidet. Tryptophan wird ebenfalls aus diesen beiden Ausgangsmolekülen produziert, jedoch erfolgt dessen Synthese in einem 11-Schritt-Weg.

- 5 Tyrosin läßt sich in einer durch Phenylalaninhydroxylase katalysierten Reaktion auch aus Phenylalanin herstellen. Alanin, Valin
 und Leucin sind jeweils Biosyntheseprodukte aus Pyruvat, dem Endprodukt der Glykolyse. Aspartat wird aus Oxalacetat, einem Zwischenprodukt des Citratzyklus, gebildet. Asparagin, Methionin,
- 10 Threonin und Lysin werden jeweils durch Umwandlung von Aspartat produziert. Isoleucin wird aus Threonin gebildet. In einem komplexen 9-Schritt-Weg erfolgt die Bildung von Histidin aus 5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat, einem aktivierten Zucker.
- 15 Aminosäuren, deren Menge den Proteinbiosynthesebedarf übersteigt, können nicht gespeichert werden, und werden statt dessen abgebaut, so daß Zwischenprodukte für die Haupt-Stoffwechselwege der Zelle bereitgestellt werden (für einen Überblick siehe Stryer, L., Biochemistry, 3. Aufl. Kap. 21 "Amino Acid Degradation and
- 20 the Urea Cycle"; S 495-516 (1988)). Die Zelle ist zwar in der Lage, ungewünschte Aminosäuren in nützliche Stoffwechsel-Zwischenprodukte umzuwandeln, jedoch ist die Aminosäureproduktion hinsichtlich der Energie, der Vorstufenmoleküle und der für ihre Synthese nötigen Enzyme aufwendig. Es überrascht daher nicht, daß
- 25 die Aminosäure-Biosynthese durch Feedback-Hemmung reguliert wird, wobei das Vorliegen einer bestimmten Aminosäure ihre eigene Produktion verlangsamt oder ganz beendet (für einen Überblick über Rückkopplungs-Mechanismen bei Aminosäure-Biosynthesewegen, siehe Stryer, L., Biochemistry, 3. Aufl., Kap. 24, "Biosynthesis of
- 30 Amino Acids and Heme", S. 575-600 (1988)). Der Ausstoß einer bestimmten Aminosäure wird daher durch die Menge dieser Aminosäure in der Zelle eingeschränkt.
- B. Metabolismus und Verwendungen von Vitaminen, Cofaktoren und Nutrazeutika

Vitamine, Cofaktoren und Nutrazeutika umfassen eine weitere Gruppe von Molekülen. Höhere Tiere haben die Fähigkeit verloren, diese zu synthetisieren und müssen sie somit aufnehmen, obwohl

- 40 sie leicht durch andere Organismen, wie Bakterien, synthetisiert werden. Diese Moleküle sind entweder biologisch aktive Moleküle an sich oder Vorstufen von biologisch aktiven Substanzen, die als Elektronenüberträger oder Zwischenprodukte bei einer Reihe von Stoffwechselwegen dienen. Diese Verbindungen haben neben ihrem
- 45 Nährwert auch einen signifikanten industriellen Wert als Farbstoffe, Antioxidantien und Katalysatoren oder andere Verarbeitungs-Hilfsstoffe. (Für einen Überblick über die Struktur, Akti-

vität und die industriellen Anwendungen dieser Verbindungen siehe bspw. Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry, "Vitamins", Bd. A27, S. 443-613, VCH: Weinheim, 1996). Der Begriff "Vitamin" ist im Fachgebiet bekannt und umfaßt Nährstoffe, die von einem 5 Organismus für eine normale Funktion benötigt werden, jedoch nicht von diesem Organismus selbst synthetisiert werden können. Die Gruppe der Vitamine kann Cofaktoren und nutrazeutische Verbindungen umfassen. Der Begriff "Cofaktor" umfaßt nicht-proteinartige Verbindungen, die für das Auftreten einer normalen Enzy-10 maktivität nötig sind. Diese Verbindungen können organisch oder anorganisch sein; die erfindungsgemäßen Cofaktor-Moleküle sind vorzugsweise organisch. Der Begriff "Nutrazeutikum" umfaßt Nahrungsmittelzusätze, die bei Pflanzen und Tieren, insbesondere dem Menschen, gesundheitsfördernd sind. Beispiele solcher Moleküle 15 sind Vitamine, Antioxidantien und ebenfalls bestimmte Lipide (z.B. mehrfach ungesättigte Fettsäuren).

Die Biosynthese dieser Moleküle in Organismen, die zu ihrer Produktion befähigt sind, wie Bakterien, ist umfassend charakteri20 siert worden (Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry, "Vitamins", Bd. A27, S. 443-613, VCH: Weinheim, 1996, Michal, G. (1999) Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology, John Wiley & Sons; Ong, A.S., Niki, E. und Packer, L. (1995) "Nutrition, Lipids, Health and Disease"
25 Proceedings of the UNESCO/Confederation of Scientific and Technological Associations in Malaysia and the Society for free Radical Research - Asien, abgehalten am 1.-3. Sept. 1994 in Penang, Malaysia, AOCS Press, Champaign, IL X, 374 S).

- 30 Thiamin (Vitamin B_1) wird durch chemisches Kuppeln von Pyrimidin und Thiazol-Einheiten gebildet. Riboflavin (Vitamin B_2) wird aus Guanosin-5'-triphosphat (GTP) und Ribose-5'-phosphat synthetisiert. Riboflavin wiederum wird zur Synthese von Flavinmononukleotid (FMN) und Flavinadenindinukleotid (FAD) eingesetzt. Die 35 Familie von Verbindungen, die gemeinsam als "Vitamin B_6 " bezeichnet werden (bspw. Pyridoxin, Pyridoxamin, Pyridoxal-5'-phosphat und das kommerziell verwendete Pyridoxinhydrochlorid), sind alle Derivate der gemeinsamen Struktureinheit 5-Hydroxy-6-methylpyridin. Panthothenat (Pantothensäure, $R_-(+)-N_-(2,4-Dihydroxy-3,3-di-40$ methyl-1-oxobutyl)- β -alanin) kann entweder durch chemische Synthese oder durch Fermentation hergestellt werden. Die letzten Schritte bei der Pantothenat-Biosynthese bestehen aus der ATP-getriebenen Kondensation von β -Alanin und Pantoinsäure. Die für die Biosyntheseschritte für die Umwandlung in Pantoinsäure, in β -Ala-
- 45 nin und zur Kondensation in Pantothensäure verantwortlichen Enzyme sind bekannt. Die metabolisch aktive Form von Pantothenat ist Coenzym A, dessen Biosynthese über 5 enzymatische Schritte

13 verläuft. Pantothenat, Pyridoxal-5'-phosphat, Cystein und ATP

PCT/EP02/12138

WO 03/040180

sind die Vorstufen von Coenzym A. Diese Enzyme katalysieren nicht nur die Bildung von Pantothenat, sondern auch die Produktion von (R)-Pantoinsäure, (R)-Pantolacton, (R)-Panthenol (Provitamin B₅), 5 Pantethein (und seinen Derivaten) und Coenzym A.

Die Biosynthese von Biotin aus dem Vorstufenmolekül Pimeloyl-CoA in Mikroorganismen ist ausführlich untersucht worden, und man hat mehrere der beteiligten Gene identifiziert. Es hat sich herausge-10 stellt, daß viele der entsprechenden Proteine an der Fe-Cluster-Synthese beteiligt sind und zu der Klasse der nifS-Proteine gehören. Die Liponsäure wird von der Octanonsäure abgeleitet und dient als Coenzym beim Energie-Metabolismus, wo sie Bestandteil des Pyruvatdehydrogenasekomplexes und des α-Ketoglutaratdehydro-15 genasekomplexes wird. Die Folate sind eine Gruppe von Substanzen, die alle von der Folsäure abgeleitet werden, die wiederum von L-Glutaminsäure, p-Aminobenzoesäure und 6-Methylpterin hergeleitet ist. Die Biosynthese der Folsäure und ihrer Derivate, ausgehend von den Stoffwechselzwischenprodukten Guanosin-5'-triphosphat 20 (GTP), L-Glutaminsäure und p-Aminobenzoesäure ist in bestimmten Mikroorganismen eingehend untersucht worden.

Corrinoide (wie die Cobalamine und insbesondere Vitamin B12) und die Porphyrine gehören zu einer Gruppe von Chemikalien, die sich 25 durch ein Tetrapyrrol-Ringsystem auszeichnen. Die Biosynthese von Vitamin B12 ist hinreichend komplex, daß sie noch nicht vollständig charakterisiert worden ist, jedoch ist inzwischen ein Großteil der beteiligten Enzyme und Substrate bekannt. Nikotinsäure (Nikotinat) und Nikotinamid sind Pyridin-Derivate, die auch als 30 "Niacin" bezeichnet werden. Niacin ist die Vorstufe der wichtigen Coenzyme NAD (Nikotinamidadenindinukleotid) und NADP (Nikotinamidadenindinukleotidphosphat) und ihrer reduzierten Formen.

Die Produktion dieser Verbindungen im Großmaßstab beruht größten-35 teils auf zellfreien chemischen Synthesen, obwohl einige dieser Chemikalien, wie Riboflavin, Vitamin B6, Pantothenat und Biotin, auch durch großangelegte Anzucht von Mikroorganismen produziert worden sind. Nur Vitamin B₁₂ wird aufgrund der Komplexität seiner Synthese lediglich durch Fermentation produziert. In-vitro-Ver-40 fahren erfordern einen erheblichen Aufwand an Materialien und Zeit und häufig an hohen Kosten.

C. Purin-, Pyrimidin-, Nukleosid- und Nukleotid-Metabolismus und Verwendungen

PCT/EP02/12138

Gene für den Purin- und Pyrimidin-Stoffwechsel und ihre entspre-5 chenden Proteine sind wichtige Ziele für die Therapie von Tumorerkrankungen und Virusinfektionen. Der Begriff "Purin" oder "Pyrimidin" umfaßt stickstoffhaltige Basen, die Bestandteile der Nukleinsäuren, Coenzyme und Nukleotide sind. Der Begriff "Nukleotid" beinhaltet die grundlegenden Struktureinheiten der Nuklein-10 säuremoleküle, die eine stickstoffhaltige Base, einen Pentose-Zucker (bei RNA ist der Zucker Ribose, bei DNA ist der Zucker D-Desoxyribose) und Phosphorsäure umfassen. Der Begriff "Nukleosid" umfaßt Moleküle, die als Vorstufen von Nukleotiden dienen, die aber im Gegensatz zu den Nukleotiden keine Phosphorsäureeinheit 15 aufweisen. Durch Hemmen der Biosynthese dieser Moleküle oder ihrer Mobilisierung zur Bildung von Nukleinsäuremolekülen ist es möglich, die RNA- und DNA-Synthese zu hemmen; wird diese Aktivität zielgerichtet bei Krebszellen gehemmt, läßt sich die Teilungs- und Replikationsfähigkeit von Tumorzellen hemmen. Es gibt 20 zudem Nukleotide, die keine Nukleinsäuremoleküle bilden, jedoch als Energiespeicher (d.h. AMP) oder als Coenzyme (d.h. FAD und NAD) dienen.

Mehrere Veröffentlichungen haben die Verwendung dieser Chemika-25 lien für diese medizinischen Indikationen beschrieben, wobei der Purin- und/oder Pyrimidin-Metabolismus beeinflußt wird (bspw. Christopherson, R.I. und Lyons, S.D. (1990) "Potent inhibitors of de novo pyrimidine and purine biosynthesis as chemotherapeutic agents", Med. Res. Reviews 10:505-548). Untersuchungen an Enzy-30 men, die am Purin- und Pyrimidin-Metabolismus beteiligt sind, haben sich auf die Entwicklung neuer Medikamente konzentriert, die bspw. als Immunsuppressiva oder Antiproliferantien verwendet werden können (Smith, J.L. (1995) "Enzymes in Nucleotide Synthesis" Curr. Opin. Struct. Biol. 5:752-757; (1995) Biochem. Soc. Trans-35 act. 23:877-902). Die Purin- und Pyrimidinbasen, Nukleoside und Nukleotide haben jedoch auch andere Einsatzmöglichkeiten: als Zwischenprodukte bei der Biosysnthese verschiedener Feinchemikalien (z.B. Thiamin, S-Adenosyl-methionin, Folate oder Riboflavin), als Energieträger für die Zelle (bspw. ATP oder GTP) und 40 für Chemikalien selbst, die gewöhnlich als Geschmacksverstärker (bspw. IMP oder GMP) oder für viele medizinische Anwendungen verwendet werden (siehe bspw. Kuninaka, A., (1996) "Nucleotides and Related Compounds in Biotechnology Bd. 6, Rehm et al., Hrsg. VCH: Weinheim, S. 561-612). Enzyme, die am Purin-, Pyrimidin-, Nukleo-45 sid- oder Nukleotid-Metabolismus beteiligt sind, dienen auch im-

mer stärker als Ziele, gegen die Chemikalien für den Pflanzen-

schutz, einschließlich Fungiziden, Herbiziden und Insektiziden, entwickelt werden.

15

Der Metabolismus dieser Verbindungen in Bakterien ist charakteri-5 siert worden (für Übersichten siehe bspw. Zalkin, H. und Dixon, J.E. (1992) "De novo purin nucleotide biosynthesis" in Progress in Nucleic Acids Research and Molecular Biology, Bd. 42, Academic Press, S. 259-287; und Michal, G. (1999) "Nucleotides and Nucleosides"; Kap. 8 in: Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry 10 and Molecular Biology, Wiley, New York). Der Purin-Metabolismus, das Objekt intensiver Forschung, ist für das normale Funktionieren der Zelle essentiell. Ein gestörter Purin-Metabolismus in höheren Tieren kann schwere Erkrankungen verursachen, bspw. Gicht. Die Purinnukleotide werden aus Ribose-5-phosphat über eine Reihe 15 von Schritten über die Zwischenverbindung Inosin-5'-phosphat (IMP) synthetisiert, was zur Produktion von Guanosin-5'-monophosphat (GMP) oder Adenosin-5'-monophosphat (AMP) führt, aus denen sich die als Nukleotide verwendeten Triphosphatformen leicht herstellen lassen. Diese Verbindungen werden auch als Energies-20 peicher verwendet, so daß ihr Abbau Energie für viele verschiedene biochemische Prozesse in der Zelle liefert. Die Pyrimidinbiosynthese erfolgt über die Bildung von Uridin-5'-monophosphat (UMP) aus Ribose-5-phosphat. UMP wiederum wird in Cytidin-5'-triphosphat (CTP) umgewandelt. Die Desoxyformen sämtlicher Nukleo-25 tide werden in einer Einschritt-Reduktionsreaktion aus der Diphosphat-Riboseform des Nukleotides zur Diphosphat-Desoxyriboseform des Nukleotides hergestellt. Nach der Phosphorylierung können diese Moleküle an der DNA-Synthese teilnehmen.

30 D. Trehalose-Metabolismus und Verwendungen

Trehalose besteht aus zwei Glucosemolekülen, die über eine α,α-1,1-Bindung miteinander verknüpft sind. Sie wird gewöhnlich in der Nahrungsmittelindustrie als Süßstoff, als Additiv für ge35 trocknete oder gefrorene Nahrungsmittel sowie in Getränken verwendet. Sie wird jedoch auch in der pharmazeutischen Industrie, der Kosmetik- und Biotechnologie-Industrie angewendet (s. bspw. Nishimoto et al., (1998) US-Patent Nr. 5 759 610; Singer, M.A. und Lindquist, S. (1998) Trends Biotech. 16:460-467; Paiva,
40 C.L.A. und Panek, A.D. (1996) Biotech Ann. Rev. 2:293-314; und Shiosaka, M. (1997) J. Japan 172:97-102). Trehalose wird durch Enzyme von vielen Mikroorganismen produziert und auf natürliche Weise in das umgebende Medium abgegeben, aus dem sie durch im Fachgebiet bekannte Verfahren gewonnen werden kann.

II. Genetische Stabilität, Proteinsynthese und Proteinsekretion in C. glutamicum

Die Produktion einer gewünschten Verbindung von einer Zelle, wie 5 C. glutamicum, ist die Kulmination einer großen Zahl an getrennten und trotzdem miteinander verknüpften Prozessen, von denen jeder für die Gesamtproduktion und die Freisetzung der Verbindung aus der Zelle entscheidend ist. Bei der Veränderung einer Zelle, so daß sie eine oder mehrere Chemikalien überproduziert, muß jeder dieser Prozesse berücksichtigt werden, um zu gewährleisten, daß die biochemische Maschinerie der Zelle mit dieser genetischen Manipulation kompatibel ist. Besonders bedeutende zelluläre Mechanismen umfassen die Stabilität das/der veränderten Gen(s/e) beim Einbringen in die Zelle, die Fähigkeit der mutierten Gens, 15 richtig transkribiert und translatiert zu werden (einschließlich der Codonverwendung) und die Fähigkeit des mutierten Proteinproduktes, richtig gefaltet und/oder sezerniert zu werden.

A. Bakterielle Reparatur- und Rekombinationssysteme

20 Zellen sind ständig nukleinsäureschädigenden Agenzien, wie UV-Bestrahlung, Sauerstoffradikale und Alkylierung, ausgesetzt. Ferner ist sogar die Wirkung von DNA-Polymerasen nicht fehlerfrei. Die Zellen müssen ein Gleichgewicht zwischen der genetischen Stabili-25 tät (die gewährleistet, daß Gene, die für zelluläre Funktionen notwendig sind, nicht während des normalen Wachstums und Stoffwechsels beschädigt werden) und der genetische Variabilität(die es den Zellen ermöglicht, sich an eine sich ändernde Umwelt anzupassen) aufrechterhalten. Daher gibt es in den meisten Zellen ge-30 trennte, aber miteinander zusammenhängende Wege für die DNA-Reparatur und DNA-Rekombination. Ersterer dient der strikten Korrektur von Fehlern in DNA-Molekülen durch entweder das direkte Rückgängigmachen der Schädigung oder durch Ausschneiden des geschädigten Bereichs und Ersetzen durch die korrekte Sequenz. Das 35 letztere Rekombinationssystem repariert auch Nukleinsäuremoleküle, aber nur solche Schäden, die zu einer Schädigung in beiden DNA-Strängen führen, so daß kein Strang als Matrize zur Korrektur des anderen verwendet werden kann. Die Rekombinationsreparatur und die SOS-Reaktion können leicht zu Inversionen, Deletionen 40 oder anderen genetischen Umlagerungen innerhalb des oder um den beschädigten Bereich führen, was wiederum einen bestimmten Grad an genomischer Instabilität fördert, der zur Fähigkeit der Zelle, sich an ändernde Umgebungen oder Streß anzupassen, beitragen

kann.

High-fidelity-Reparaturmechanismen beinhalten das direkte Rückgängigmachen des DNA-Schadens und das Ausschneiden des Schadens und die Resynthese unter Verwendung der im Gegenstrang codierten Information. Das direkte Rückgängigmachen des Schadens erfordert 5 ein Enzym mit einer Aktivität, die das Gegenteil desjenigen bewirkt, was ursprünglich die DNA beschädigt hat. Beispielsweise kann eine unrichtige Methylierung von DNA durch die Wirkung von DNA-Reparatur-Methyltransferasen korrigiert werden, und durch UV-Bestrahlung erzeugte Nukleotiddimere können durch die Aktivität 10 der Desoxyribodipyrimidinphotolyase repariert werden, die in Gegenwart von Licht das Dimer wieder in die entsprechenden Nukleotide spaltet (s. Michal, G. (1999) Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology, Wiley: New York, und die darin zitierten Literaturstellen).

15

Die genaue Reparatur größerer Schäden erfordert spezialisierte Reparaturmechanismen. Dazu gehören die Mismatch-Reparatur- und die Ausschneide-Reparatursysteme. Die Beschädigung einer einzelnen Base kann durch eine Reihe von Spaltungsreaktionen korrigiert 20 werden, wobei zuerst die Zuckerbindung gespalten wird, gefolgt von Spaltung des DNA-Rückgrats an der beschädigten Stelle und Entfernen der beschädigten Base selbst. Schließlich bewirken DNA-Polymerase und DNA-Ligase das Auffüllen und Versiegeln der Lücke unter Verwendung des zweiten DNA-Strangs als Matrize. Ein erhe-25 blicherer DNA-Schaden, der zu einer veränderten Konformation der Doppelhelix führt, wird durch das ABC-System korrigiert, bei dem Helicase II, DNA-Polymerase I, die UvrA-, UvrB- und UvrC-Proteine zusammen die Doppelhelix an der beschädigten Stelle einzelsträngig spalten, den beschädigten Bereich auf ATP-abhängige Weise 30 aufwinden, den beschädigten Bereich ausschneiden und den fehlenden Bereich mit dem anderen Strang als Matrize auffüllen. Schließlich versiegelt die DNA-Ligase den Einzelstrangbruch. Spezifische Reparatursysteme gibt es auch für G-T-Mismatches (an denen das Vsr-Protein beteiligt ist) und für kleine Deletions-/In-35 sertionsfehler aufgrund der falschen Reparatur der beiden Stränge (an denen der methylierungsgesteuerte Weg beteiligt ist).

Es gibt auch Low-fidelity-Reparatursysteme, die gewöhnlich zur Korrektur sehr ausgedehnter DNA-Schäden bei Bakterien verwendet 40 werden. Doppelstrangreparatur und Rekombination erfolgen bei Vorliegen einer Schädigung, die beide DNA-Stränge betrifft. In dieser Situation ist es unmöglich, den Schaden unter Verwendung des anderen Strangs als Matrize zu reparieren. Somit beinhaltet das Reparatursystem ein Doppel-Crossover-Ereignis zwischen dem be-45 schädigten Bereich und einer anderen Kopie des Bereichs auf einem homologen DNA-Molekül. Dies ist möglich, da sich Bakterien so schnell teilen, daß eine zweite Kopie der genomischen DNA gewöhnlich verfügbar ist, bevor die Zellteilung tatsächlich stattfindet. Dieses Crossover-Ereignis kann leicht zu Inversionen, Duplikationen, Deletionen, Insertionen und anderen genetischen Umlagerungen führen und erhöht so insgesamt die genetische Instabibität des Organismus.

Die SOS-Reaktion wird aktiviert, wenn eine ausreichende Schädigung in der DNA vorliegt, daß die DNA-Polymerase III anhält und nicht mit der Replikation fortfahren kann. Unter diesen Umständen 10 ist einzelsträngige DNA zugegen. Das RecA-Protein wird durch Bindung an einzelsträngige DNA aktiviert, und diese aktivierte Form führt zur Aktivierung des LexA-Repressors, wodurch der Transkriptionsblock von mehr als 20 Genen aufgehoben wird, einschließlich UvrA, UvrB, UvrC, Helicase II, DNA pol III, UmuC und UmuD. Die kombinierten Aktivitäten dieser Enzyme bewirken ein ausreichendes Auffüllen des Lückenbereichs, daß DNA pol III die Replikation wieder aufnehmen kann. Diese Lücken werden jedoch mit Basen aufgefüllt, die nicht vorliegen sollten; somit führt dieser Reparaturtyp zu einer fehleranfälligen Reparatur, was insgesamt zur genetischen Instabilität in der Zelle beiträgt.

B. Transposons

Die oben genannten Systeme mit High- oder Low-fidelity sollen

25 DNA-Schäden reparieren. Unter bestimmten Umständen kann diese Reparatur zusätzliche Genumlagerungen umfassen. Viele Bakterienzellen haben außerdem Mechanismen, die spezifisch solche Genumlagerungen verursachen sollen. Besonders gut bekannte Beispiele für solche Mechanismen sind die Transposons.

30

Transposons sind genetische Elemente, die von einer Stelle zu einer anderen entweder innerhalb eines Chromosoms oder zwischen einem Stück extrachromosomaler DNA (z.B. einem Plasmid) und einem Chromosom wandern können. Die Transposition auf auf mehrere Weisen erfolgen; beispielsweise kann das transponierbare Element aus der Donorstelle ausgeschnitten und in die Zielstelle integriert werden (nicht-replikative Transposition), oder das transponierbare Element kann alternativ von der Donorstelle zur Zielstelle dupliziert werden, was zwei Kopien des Elements ergibt (replikative Transposition). Gewöhnlich gibt es keine Sequenzverwandtschaft zwischen der Donor- und der Zielstelle.

Dieses Transpositionsereignis hat eine Vielzahl möglicher Ergebnisse. Die Integration eines transposablen Elementes in ein Gen 45 disrumpiert das Gen, was dessen Funktion gewöhnlich völlig ausschaltet. Ein Integrationsereignis, das in der das Gen umgebenden DNA stattfindet, kann nicht die codierende Sequenz selbst stören,

aber eine grundlegende Auswirkung auf die Regulation des Gens und somit auf seine Expression haben. Rekombinationsereignisse zwischen zwei Kopien eines transposablen Elementes, das sich in verschiedenen Abschnitten des Genoms befindet, können zu Deletionen, Duplikationen, Inversionen, Transpositionen oder Amplifikationen von Segmenten des genoms führen. Es ist auch möglich, daß verschiedene Replikons fusionieren.

Die einfachsten transposonartigen genetischen Elemente werden als 10 Insertions- (IS-) Elemente bezeichnet. IS-Elemente enthalten einen Nukleotidbereich variabler Länge (aber gewöhnlich weniger als 1500 Basen), der keine codierenden Bereiche enthält und an jedem ende von Inverted Repeats umgeben ist. Da das IS-Element keine Proteine codiert, deren Aktivität nachgewiesen werden kann, wird das Vorliegen eines IS-Elementes gewöhnlich nur aufgrund eines Funktionsverlustes von einem oder mehreren Genen, in die das IS-Element inseriert ist, beobachtet.

Transposons sind mobile genetische Elemente, die im Gegensatz zu 20 IS-Elementen von Repeats begrenzte Nukleinsäuresequenzen enthalten, die ein oder mehrere Proteine codieren können. Es ist nicht ungewöhnlich, daß diese Repeatbereiche aus IS-Elementen bestehen. Die vom Transposon codierten Proteine sind gewöhnlich Transposasen (Proteine, die die Wanderung des Transposons von einer Stelle 25 zur anderen katalysieren) und Antibiotika-Resistenzgene. Die Mechanismen und die Regulation der transposablen Elemente sind im Fachgebiet bekannt und wurden zumindest bspw. beschrieben in: Lengeler et al. (1999) Biology of Prokaryotes, Thieme Verlag: Stuttgart, S. 375-361; Neidhardt et al. (1996) Escherichia coli 30 and Salmonella, ASM Press: Washington, D.C.; Sonenshein, Al.L., et al., Hrsg. (1993) Bacillus subtilis, ASM Press, Washington, D.C.; Voet, D., und Voet, J.G. (1992) Biochemie, VCH: Weinheim, S. 985-990; Brock, T.D., und Madigan, M.T. (1991) Biology of Mocroorganisms, 6. Aufl. Prentice Hall: New York, S. 267-269; und 35 Kleckner, N. (1990) "Regulation of transposition in bacteria", Annu. Rev. Biochem. 61:297-327.

C. Transkription

- 40 Die Genexpression in Bakterien wird hauptsächlich auf der Ebene der Transkription reguliert. Der Transkriptionsapparat besteht aus einer Reihe von Proteinen, die man in zwei Gruppen einteilen kann: RNA-Polymerase (das operierende DNA-transkribierende Enzym) und Sigma-Faktoren (die die Gentranskription regulieren, indem
- 45 sie die RNA-Polymerase zu spezifischer Promotor-DNA-Sequenzen lenken, die diese Faktoren erkennen). Die Kombination von RNA-Polymerase und Sigma-Faktoren erzeugt das RNA-Polymerase-Holoenzym,

einen aktivierten Komplex. Gram-positive Bakterien, wie Coryne-bakterien, enthalten nur einen Typ der RNA-Polymerase, aber eine Anzahl verschiedener Sigma-Faktoren, die für verschiedene Promotoren, Wachstumsphasen, Umweltbedingungen, Substrate, Sauerstoffspiegel, Transportprozesse und dgl. Spezifisch sind, wodurch sich der Organismus an verschiedene Umwelt- und Stoffwechselbedingungen anpassen kann.

Promotoren sind spezifische DNA-Sequenzen, die als Andockstellen 10 für das RNA-Polymerase-Holoenzym dienen. Viele Promotorelemente besitzen konservierte Sequenzelemente, die durch Homologiesuchen erkannt werden können; alternativ können Promotorbereiche für ein bestimmtes Gen unter Verwendung von Standard-Techniken, wie Primerextension, identifiziert werden. Viele Promotorbereiche von gram-positiven Bakterien sind bekannt (s. z.B. Sonenshein, A.L., Hoch, J.A., und Losick, R., Hrsg. (1993) Bacillus subtilis, ASM Press: Washington, D.C.).

Die Promotor-Transkriptionskontrolle wird durch mehrere Repres-20 sions- oder Aktivierungsmechanismen beeinflußt. Spezifische regulatorische Proteine, die an Promotoren binden, haben die Fähigkeit, die Bindung des RNA-Holoenzyms zu blockieren (Repressoren) oder diese zu unterstützen (Aktivatoren) und so die Transkription zu regulieren. Die Bindung dieser Repressor- und Akti-25 vatormoleküle wird wiederum durch ihre Wechselwirkungen mit anderen Molekülen, wie Proteinen oder anderen Stoffwechselverbindungen, reguliert. Die Transkription kann alternativ durch Faktoren reguliert werden, die Prozesse, wie die Elongation oder Termination beeinflussen (s. z.B. Sonenshein, A.L., Hoch, J.A., und Lo-30 sick, R., Hrsg. (1993) Bacillus subtilis, ASM Press: Washington, D.C.). Durch die Fähigkeit, die Transkription von Genen als Reaktion auf eine Vielzahl von Umwelt- oder Stoffwechselzeichen zu regulieren, können die Zellen genau steuern, wann ein Gen exprimiert werden kann und wieviel eines Genproduktes in der Zelle zu 35 einem Zeitpunkt vorliegen kann. Dies verhindert wiederum die unnötige Verschwendung von Energie oder die unnötige Verwendung möglicherweise rarer Zwischenverbindungen oder Cofaktoren.

D. Translation und Aminoacyl-tRNA-Synthetasen

Die Translation ist der Prozeß, durch den ein Polypeptid aus Aminosäuren gemäß der in einem RNA-Molekül enthaltenen Information synthetisiert wird. Die Hauptkomponenten dieses Prozesses sind Ribosomen und spezifische Initiations- oder Elongationsfaktoren, wie IF1-3, ERFINDUNGSGEMÄSS-G und EFTu (s. z.B. Sonenshein, A.L.,

Hoch, J.A., und Losick, R., Hrsg. (1993) Bacillus subtilis, ASM Press: Washington, D.C.).

Jedes Codon des mRNA-Moleküls codiert eine bestimmte Aminosäure.

5 Die Umwandlung von mRNA in Aminosäure wird durch Transfer-RNA(tRNA-) Moleküle durchgeführt. Diese Moleküle bestehen aus einem
RNA-Einzelstrang (zwischen 60 und 100 Basen), der in einer L-förmigen dreidimensionalen Struktur mit hinausragenden Bereichen
oder "Armen" vorliegt. Einer dieser Arme bildet Basenpaare mit

10 einer bestimmten Codonsequenz auf dem mRNA-Molekül. Ein zweiter
Arm interagiert spezifisch mit einer bestimmten Aminosäure (die
vom Codon codiert wird). Andere tRNA-Arme umfassen den variablen
Arm, den T\(\forall C\)-Arm (der Thymidylat- und Pseudouridylatmodifikationen tr\(\text{agt}\)) und den D-Arm (der eine Dihydrouridinmodifikation

15 tr\(\text{agt}\)). Die Funktion dieser letzteren Strukturen ist immer noch
unbekannt, aber ihre Konservierung zwischen den tRNA-Molek\(\text{ulen}\)
legt eine Rolle bei der Proteinsynthese nahe.

Damit das auf Nukleinsäure basierende tRNA-Molekül sich mit der 20 korrekten Aminosäure paart, muß eine Familie von Enzymen, die als Aminoacyl-tRNA-Synthetasen bezeichnet werden, wirken. Es gibt viele verschiedene dieser Enzyme, und jedes ist spezifisch für eine bestimmte tRNA und eine bestimmte Aminosäure. Diese Enzyme binden das 3'-Hydroxyl der endständigen tRNA-Adenosin-Ribose-Ein-25 heit in einer Zwei-Schritt-Reaktion an die Aminosäure. Zuerst wird das Enzym durch Reaktion mit ATP und der Aminosäure aktiviert, woraus ein Aminoacyl-tRNA-Synthetase-Aminoacyl-Adenylat-Komplex resultiert. Zweitens wird die Aminoacylgruppe vom Enzym auf die Ziel-tRNA übertragen, an der sie in einem energiereichen 30 Zustand bleibt. Die Bindung des tRNA-Moleküls an sein Erkennungscodon auf dem mRNA-Molekül bringt dann die an die tRNA gebundene energiereiche Aminosäure in Kontakt mit dem Ribosom. Innerhalb des Ribosoms besetzt die Aminosäure-beladene tRNA (AminoacyltRNA) eine Bindungsstelle (die A-Stelle) neben einer zweiten 35 Stelle (der P-Stelle), die ein tRNA-Molekül trägt, dessen Aminosäure an die naszierende Polypeptidkette gebunden ist (PeptidyltRNA). Die aktivierte Aminosäure an der Aminoacyl-tRNA ist ausreichend reaktiv, daß sich spontan eine Peptidbindung zwischen dieser Aminosäure und der nächsten Aminosäure an der naszierenden 40 Polypeptidkette bildet. Die GTP-Hydrolyse liefert die Energie zum

45 Es gibt eine Reihe verschiedener Schritte, an denen die Translation reguliert werden kann. Dazu gehören die Bindung des Ribosoms an mRNA, das Vorliegen von mRNA-Sekundärstruktur, die Codonver-

sich, bis ein Stopcodon erreicht wird.

Transfer der jetzt mit der Polypeptidkette beladenen tRNA von der A-Stelle zur P-Stelle des Ribosoms, und der Prozeß wiederholt

wendung oder die Häufigkeit bestimmter tRNAs. Auch spezielle Regulationsmechanismen, wie Attenuation, können auf der Translationsebene wirken. Eine tiefgreifende Übersicht über viele dieser Mechanismen s. z.B. in Vellanoweth, R.L. (1993) "Translation and its Regulation", in: Bacillus subtilis and other Gram Positive Bacteria, Sonenshein, A.L., et al., Hrsg., ASM Press: Washington, D.C., S. 699-711 und die darin zitierten Literaturstellen.

E. Proteinfaltung und -Sekretion

10

Die Synthese von Proteinen durch das Ribosom führt zu Polypeptidketten, die eine dreidimensionale Form annehmen müssen, bevor das Protein normal funktionieren kann. Die dreidimensionale Struktur wird durch einen Faltungsprozeß erzielt. Polypeptidketten sind

15 flexibel und bewegen sich (im Prinzip) leicht und frei in Lösung, bis sie eine Konformation annehmen, die zu einer stabilen dreidimensionalen Struktur führt. Manchmal ist es jedoch für Proteine schwierig, sich richtig zu falten, entweder aufgrund der Umweltbedingungen (z.B. hohe Temperatur, bei der die im System vorhandene kinetische Energie es dem Protein schwieriger macht, in das Energieloch einer stabilen Struktur zu fallen) oder aufgrund der Art des Proteins selbst (z.B. neigen hydrophobe Bereiche in nahe beieinander befindlichen Proteinen zur Aggregation, wodurch sie sich selbst aus wäßrigen Lösungen ausfällen).

25 Proteinartige Faktoren sind identifiziert worden, die die Faltung von Proteinen katalysieren, begleiten oder anderweitig unterstützen können und co- oder posttranslational synthetisiert werden. Zu diesen Proteinfaltungsmolekülen gehören die Prolyl-Peptidyl-30 Isomerasen (z.B. Trigger-Faktor, Cyclophilin und FKBP-Homologa) sowie Proteine der Hitzeschockprotein-Gruppe (z.B. DnaK, DnaJ, GroEL, kleine Hitzeschockproteine, HtpG und Mitglieder der Clp-Familie (z.B. ClpA, ClpB, ClpW, ClpP und ClpX). Viele dieser Proteine sind für die Lebensfähigkeit von Zellen wichtig: zusätzlich 35 zu ihrer Funktion bei der Proteinfaltung, -translokation und prozessierung dienen sie häufig als Ziele für die Gesamtregulation der Proteinsynthese (s. z.B. Bukau, B. (1993) Molecular Microbiology 9(4):671-680; Bukau, B., und Horwich, A.L. (1998) Cell 92(3):351-366; Hesterkamp, T., Bukau, C. (1996) FEBS Lett. 40 389(1):32-34; Yaron, A., Naider, F. (1993) Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 28(1):31-81; Scheibel, R.,

Buchner, J. (1998) Biochemical Pharmacology 56(6):675-682; Ellis, R.J., Hartl, F.U. (1996) FASEB Journal 10(1):20-26; Wawrzynow, A., et al. (1996) Molecular Micorbiology 21(5):895-899; Ewalt, 45 K.L., et al. (1997) Cell 90(3):491-500).

Die bisher identifizierten Chaperone wirken auf zwei Weisen: sie binden entweder an Polypeptide und stabilisieren diese oder sie stellen eine Umgebung bereit, in der die Faltung ohne Störung stattfinden kann. Die erstere Gruppe, einschließlich z.B. DnaK, 5 DnaJ und der Hitzeschockproteine, bindet direkt an das naszierende oder falsch gefaltete Polypeptid, häufig begleitet von ATP-Hydrolyse. Die Bindung des Chaperons verhindert, daß das Polypeptid mit anderen Polypeptiden aggregiert, und kann die Auflösung dieser Aggregate, wenn sie sich bereits gebildet haben, er-10 zwingen. Nach der Wechselwirkung mit einem zweiten Chaperon GrpE (das das Auftreten eines ADP-ATP-Austauschs ermöglicht) wird das Polypeptid im Molten-globule-Zustand freigesetzt und kann sich falten. Wenn eine falsche Faltung auftritt, binden die Chaperone wieder an das falsch gefaltete Protein und erzwingen seine Rück-15 kehr in einen ungefalteten Zustand. Dieser Zyklus kann wiederholt werden, bis das Protein korrekt gefaltet ist. Im Gegensatz zur ersten Chaperongruppe, die einfach an das Polypeptid bindet, bindet die zweite Gruppe (z.B. GroEL/ES) nicht nur an das Polypeptid, sondern umgibt es vollständig, so daß es vor der Umgebung 20 geschützt ist. Der GroEL/ES-Komplex besteht aus zwei aufeinandergestapelten 14-gliedrigen Ringen mit einer hydrophoben inneren Oberfläche und einem "Deckel" aus einem 7-gliedrigen Ring. Das Polypeptid wird in einer ATP-abhängigen Reaktion in den Kanal im Zentrum dieses Komplexes gezogen, wo es sich ohne Störung durch 25 andere Polypeptide falten kann. Falsch gefaltete Proteine werden nicht aus dem Komplex freigesetzt.

Ein wichtiger Schritt bei der Proteinfaltung ist die Bildung von Disulfidbindungen. Diese Bindungen, entweder innerhalb einer Un30 tereinheit oder zwischen Untereinheiten von Proteinen, sind für die Proteinstabilität wichtig. Disulfidbindungen bilden sich leicht in wäßriger Lösung, und es ist schwierig, eine falsche Disulfidbrückenbildung ohne Hilfe einer reduzierenden Umgebung rückgängig zu machen. Zur Unterstützung dieses Prozesses der korrekten Disulfidbrückenbildung findet man im Cytosol der meisten Zellen thiolhaltige Moleküle, wie Glutathion oder Thioredoxin und ihre entsprechenden Oxidations-/Reduktionssysteme (Loferer, H., Hennecke, H. (1994) Trends in Biochemical Sciences 19(4):169-171).

40

Zu bestimmten Zeiten ist jedoch die Faltung naszierender Polypeptidkette nicht wünschenswert, bspw. wenn diese Proteine sezerniert werden sollen. Der Faltungsprozeß führt gewöhnlich dazu, daß die hydrophoben Bereiche des Proteins sich im Zentrum des Proteins, entfernt von der wäßrigen Lösung, befinden und die hydrophilen Bereiche an den äußeren Oberflächen des Proteins präsentiert werden. Diese Konformationsanordnung erzeugt zwar eine

höherer Stabilität für das Protein, erschwert aber die Translokation des Proteins über Membranen, da der hydrophobe Kern der Membran an sich inkompatibel mit dem hydrophilen Äußeren des Proteins ist. So werden die von der Zelle synthetisierten Proteine,

- 5 die zum Äußeren der Zelle sezerniert werden müssen (z.B. Zelloberflächenenzyme und Membranrezeptoren) oder die in die Membran selbst inseriert werden müssen (z.B. Transporterproteine und Kanalproteine), gewöhnlich vor der Faltung sezerniert oder inseriert. Die gleichen Chaperone, die die Aggregation naszierender
- 10 Polypeptidketten verhindern, verhindern auch die Faltung von Polypeptiden, bis sie nicht mehr gebraucht werden. Somit können diese Proteine naszierende Polypeptidketten zu einem geeigneten Ort in der Zelle "eskortieren", wo sie entweder entfernt werden, so daß die Faltung möglich wird, oder das Protein auf ein Trans-
- 15 portsystem übertragen, das entweder das Polypeptid sezerniert oder seine Insertion in eine Membran unterstützt.

Im Verlauf der Evolution hat sich eine spezialisierte Proteinmaschinerie gebildet, die Proteine mit spezifischen Prosequenzen

- 20 (die später durch Spaltung aus dem Protein entfernt werden) erkennt, bindet, Transportiert und prozessiert. Die Maschinerie besteht aus einer Reihe von Proteinen, die man gemeinsam als sec (Typ-II-Sekretions-) System bezeichnet (eine Übersicht s. in Gilbert, M., et al. (1995) Critical Reviews in Biotechnology
- 25 15(1):13-39 und den Literaturstellen darin; Freudl, R. (1992)
 Journal of Biotechnology 23(3):231-240 und Literaturstellen
 darin; Neidhardt, F.C., et al. (1996) E. coli and Salmonella, ASM
 Press: Washington, D.C., S. 967-978; Binet, R., et al. (1997)
 Gene 192(1):7-11 und Rapoport, T.A. (1986) Critical Reviews in
- 30 Biochemistry 20(1):73-137 und Literaturstellen darin). Das sec-System besteht aus Chaperonen (z.B. SecA und SecB), integralen Membranproteinen, die auch als Translokasen bezeichnet werden (z.B. SecY, SecE und SecG) und Signalpeptidasen (z.B. LepB). Das naszierende Polypeptid mit einer prosequenz, die zur Sekretion
- 35 führt, wird von SecB gebunden, das es an SecA an der inneren Oberfläche der Zellmembran übergibt. SecA bindet an die Prosequenz und inseriert nach ATP-Hydrolyse in die Membran und zwingt auch einen Teil des Polypeptids durch die Membran. Der Rest des Polypeptids wird durch einen Komplex aus Translokasen, wie SecY,
- 40 SecE und SecG, durch die Membran geleitet. Schließlich spaltet die Signalpeptidase die Prosequenz ab, und das Polypeptid befindet sind frei auf der extrazellulären Seite der Membran, wo es sich spontan faltet.
- 45 Auch Sec-unabhängige Sekretionsmechanismen sind bekannt. Beispielsweise umfaßt der Signalerkennungspartikel-abhängige Weg die Bindung eines Signalerkennungspartikel- (SRP-) Proteins an das

naszierende Polypeptid während seiner Synthese, wodurch das Ribosom anhält. Ein Rezeptor für SRP an der inneren Oberfläche der Membran bindet dann den Ribosom-Polypeptid-SRP-Komplex. GTP-Hydrolyse liefert die Energie, die zur Übertragung des Komplexes auf den sec-Translokase-Komplex nötig ist, an dem das Polypeptid während seiner Synthese durch das Ribosom über die Membran geleitet wird. Bekanntlich existieren andere, für nur wenige Proteine spezifische Sekretionsmechanismen.

10 III. Elemente und Verfahren der Erfindung

Die vorliegende Erfindung beruht zumindest teilweise auf der Entdeckung von neuen Molekülen, die hier als SES-Nukleinsäure- und Proteinmoleküle bezeichnet werden und an der Reparatur oder Re-15 kombination von DNA in C. glutamicum, Transposition oder anderen Umlagerung von C. glutamicum-DNA, Genexpression in C. glutamicum (d. h. Transkriptions- oder Translationsprozessen), Proteinfaltung oder Proteinsekretion diese Mikroorganismus teilnehmen. In einer Ausführungsform nehmen die SES-Moleküle an der Reparatur 20 oder Rekombination von DNA, Transposition von genetischem Material, Genexpression (d. h. Transkriptions- oder Translationsprozessen), Proteinfaltung oder Proteinsekretion in Corynebacterium glutamicum teil. In einer bevorzugten Ausführungsform hat die Aktivität der erfindungsgemäßen SES-Moleküle bezüglich der Repara-25 tur oder Rekombination von DNA, Transposition von DNA, Genexpression, Proteinfaltung oder Proteinsekretion eine Auswirkung auf die Produktion einer gewünschten Feinchemikalie durch diesen Mikroorganismus. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist die Aktivität der erfindungsgemäßen SES-Moleküle moduliert, so 30 daß auch die Aktivität der C. glutamicum-Zellprozesse, an denen die erfindungsgemäßen SES-Proteine beteiligt sind, (z.B. Reparatur oder Rekombination von DNA, Transposition von DNA, Genexpression, Proteinfaltung oder Proteinsekretion) verändert ist, was direkt oder indirekt zu einer Modulation der Ausbeute, Produktion 35 und/oder Effizienz der Produktion einer gewünschten Feinchemikalie durch C. glutamicum führt.

Der Begriff "SES-Protein" oder "SES-Polypeptid" umfaßt Proteine, die an einer Reihe von Zellprozessen beteiligt sind, die zur ge40 netischen Stabilität, Genexpression, Proteinfaltung oder Proteinsekretion von C. glutamicum in Beziehung stehen. Beispielsweise kann ein SES-Protein an der DNA-Reparatur oder an Rekombinationsmechanismen bei C. glutamicum, Umlagerungen des genetischen Materials von C. glutamicum (wie den von Transposons vermittelten),
45 der Transkription oder Translation von Genes in diesem Mikroorganismus, bei der Vermittlung der Proteinfaltung in C. glutamicum (wie der Aktivität von Chaperonen) oder der Sekretion von Protei-

nen aus C. glutamicum-Zellen (z.B. am sec-System) beteiligt sein. Beispiele für SES-Proteine umfassen solche, die von den in Tabelle 1 und Anhang A aufgeführten SES-Genen codiert werden. Die Ausdrücke "SES-Gen" oder "SES-Nukleinsäuresequenz" umfassen Nu-5 kleinsäuresequenzen, die ein SES-Protein codieren, das aus einem codierenden Bereich und entsprechenden untranslatierten 5'- und 3'-Sequenzbereichen besteht. Beispiele für SES-Gene sind die in Tabelle 1 aufgelisteten. Die Begriffe "Produktion" oder "Produktivität" sind im Fachgebiet bekannt und beinhalten die Konzentra-10 tion des Fermentationsproduktes (bspw. der gewünschten Feinchemikalie), das innerhalb einer festgelegten Zeitspanne und eines festgelegten Fermentationsvolumens gebildet wird (bspw. kg Produkt pro Std. pro 1). Der Begriff "Effizienz der Produktion" umfaßt die Zeit, die zur Erzielung einer bestimmten Produktions-15 menge nötig ist (bspw. wie lange die Zelle zur Aufrichtung einer bestimmten Ausstoßrate einer Feinchemikalie benötigt). Der Begriff "Ausbeute" oder "Produkt/Kohlenstoff-Ausbeute" ist im Fachgebiet bekannt und umfaßt die Effizienz der Umwandlung der Kohlenstoffquelle in das Produkt (d.h. die Feinchemikalie). Dies 20 wird bspw. gewöhnlich ausgedrückt als kg Produkt pro kg Kohlenstoffquelle. Durch Vergrößern der Ausbeute oder Produktion der Verbindung wird die Menge der gewonnenen Moleküle oder der geeigneten gewonnenen Moleküle dieser Verbindung in einer bestimmten Kulturmenge über einen festgelegten Zeitraum erhöht. Die Begriffe 25 "Biosynthese" oder "Biosyntheseweg" sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Synthese einer Verbindung, vorzugsweise einer organischen Verbindung, durch eine Zelle aus Zwischenverbindungen, bspw. in einem Mehrschritt- oder stark regulierten Prozeß. Die Begriffe "Abbau" oder "Abbauweg" sind im Fachgebiet bekannt 30 und umfassen die Spaltung einer Verbindung, vorzugsweise einer organischen Verbindung, durch eine Zelle in Abbauprodukte (allgemeiner gesagt, kleinere oder weniger komplexe Moleküle), bspw. in einem Mehrschritt- oder stark regulierten Prozeß. Der Begriff "Metabolismus" ist im Fachgebiet bekannt und umfaßt die Gesamt-35 heit der biochemischen Reaktionen, die in einem Organismus stattfinden. Der Metabolismus einer bestimmten Verbindung (z.B. der Metabolismus einer Aminosäure, wie Glycin) umfaßt dann sämtliche Biosynthese-, Modifikations- und Abbauwege in der Zelle, die diese Verbindung betreffen. Der Begriff "DNA-Reparatur" ist im 40 Fachgebiet bekannt und beinhaltet zelluläre Mechanismen, durch die Fehler in der DNA (entweder aufgrund von Schäden, wie, aber nicht beschränkt auf Ultraviolettbestrahlung, Methylasen, Low-fidelity-Replikation oder Mutagene) ausgeschnitten und korrigiert werden. Der Ausdruck "Rekombination" oder "DNA-Rekombination" ist

45 im Fachgebiet bekannt und umfaßt zelluläre Mechanismen, durch die ausgedehnte DNA-Schäden, die beide Stränge eines DNA-Moleküls betreffen, durch homologe Rekombination mit einer anderen unbeschä-

digten Kopie des DNA-Moleküls innerhalb der gleichen Zelle korrigiert werden. Diese Reparaturen sind gewöhnlich low-fidelity und können zu Genumlagerungen führen. Der Begriff "Transposon" ist im Fachgebiet bekannt und umfaßt ein DNA-Element, das zufallsgemäß 5 in das Genom eines Organismus inserieren kann und zur Disruption von Genen oder ihrer regulatorischen Bereiche oder zu Duplikationen, Inversionen, Deletionen und anderen Genumlagerungen führen kann. Der Begriff "Proteinfaltung" ist im Fachgebiet bekannt und umfaßt die Wanderung einer Polypeptidkette durch mehrere dreidi-10 mensionale Konfigurationen, bis die stabile, aktive, dreidimensionale Konfiguration erzielt wird. Die Bildung von Disulfidbindungen und die Sequestrierung hydrophober Bereich aus der umgebenden wäßrigen Lösung liefern einige der Antriebskräfte für diesen Proteinfaltungsprozeß, und die korrekte Faltung kann durch 15 die Aktivität von Chaperonen verstärkt werden. Die Begriffe "Sekretion" oder "Proteinsekretion" sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Bewegung von Proteinen vom Inneren der Zelle zum Äußeren der Zelle in einem Mechanismus, bei dem ein System von Sekretionsproteinen ihren Durchtritt über die Zellmembran zum Äu-20 ßeren der Zelle ermöglicht.

Die erfindungsgemäßen SES-Moleküle sind in einer anderen Ausführungsform befähigt, die Produktion eines gewünschten Moleküls, wie einer Feinchemikalie, in einem Mikroorganismus, wie C. gluta-25 micum, zu modulieren. Es gibt eine Reihe von Mechanismen, durch die die Veränderung eines erfindungsgemäßen SES-Proteins die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion einer Feinchemikalie aus einem C. glutamicum-Stamm, der dieses veränderte Protein enthält, direkt beeinflussen kann. Zum Beispiel sollte 30 die Modulation von Proteinen, die direkt an der Transkription oder Translation beteiligt sind (z.B. Polymerasen oder Ribosomen), so daß ihre Anzahl oder Aktivität gesteigert wird, die zelluläre Transkription oder Translation (oder die Geschwindigkeiten dieser Prozesse) insgesamt steigern. Diese erhöhte zelluläre Ge-35 nexpression sollte solche Proteine umfassen, die an der Feinchemikalienbiosynthese beteiligt sind, so daß eine Steigerung der Ausbeute, Produktion oder Effizienz der Produktion einer oder mehrerer gewünschten Verbindungen erfolgen kann. Modifikationen der Transkriptions-/Translations-Proteinmaschinerie von C. gluta-40 micum, so daß die Regulation dieser Proteine verändert wird, kann auch die erhöhte Expression von Genen, die an der Produktion von Feinchemikalien beteiligt sind, ermöglichen. Die Modulation der Aktivität einer Reihe von Proteinen, die an der Peptidfaltung beteiligt sind, kann eine Erhöhung der Gesamtproduktion korrekt ge-45 falteter Moleküle in der Zelle ermöglichen, wodurch die Möglichkeit erhöht wird, daß gewünschte Proteine (z.B. Feinchemikalienbiosynthese-Proteine) richtig funktionieren können. Ferner kann

PCT/EP02/12138

es durch Mutation von an der Sekretion aus *C. glutamicum* beteiligten Proteinen, so daß ihre Anzahl oder Aktivität erhöht ist, möglich sein, die Sekretion einer Feinchemikalie (z.B. eines Enzyms) aus Zellen in der Fermentationskultur zu erhöhen, aus der 5 sie leicht gewonnen werden kann.

Die genetische Modifikation der erfindungsgemäßen SES-Moleküle kann auch zu einer indirekten Modulation der Produktion einer oder mehrerer Feinchemikalien führen. Beispielsweise kann man 10 durch Erhöhen der Anzahl oder Aktivität eines erfindungsgemäßen DNA-Reparatur- oder -Rekombinationsproteins die Fähigkeit der Zelle, eine DNA-Schädigung zu entdecken und zu reparieren, erhöhen. Dies sollte die Fähigkeit der Zelle, ein mutiertes Gen in ihrem Genom zu halten, wirksam erhöhen und dadurch die Wahr-15 scheinlichkeit erhöhen, daß ein gentechnologisch in C. glutamicum eingebrachtes Transgen (das z.B. ein Protein codiert, das die Biosynthese einer Feinchemikalie steigert) nicht während der Züchtung des Mikroorganismus verloren geht. Dagegen kann es durch Verringern der Anzahl oder Aktivität eines oder mehrerer DNA-Re-20 paratur- oder -Rekombinationsproteine möglich sein, die genetische Instabilität des Organismus zu steigern. Diese Manipulationen sollten die Fähigkeit des Organismus, durch Mutagenese modifiziert zu werden, verbessern, ohne daß die eingebrachte Mutation berichtigt wird. Das gleiche gilt für Proteine, die an der Trans-25 position oder Umlagerung genetischer Elemente in C. glutamicum beteiligt sind (z.B. Transposons). Durch Mutagenese dieser Proteine, so daß ihre Anzahl oder Aktivität entweder gesteigert oder verringert wird, ist es möglich, gleichzeitig die genetische Stabilität des Mikroorganismus zu steigern oder zu verringern. Dies 30 hat eine bedeutende Auswirkung darauf, daß eine andere Mutation in C. glutamicum eingebracht und die eingebrachte Mutation beibehalten werden kann. Transposons bieten ebenfalls einen geeigneten Mechanismus, durch den die Mutagenese von C. glutamicum durchgeführt werden kann; die Duplikation gewünschter Gene (z.B. von 35 Feinchemikalienbiosynthese-Genen) läßt sich leicht mittels Transposonmutagenese durchführen, wie auch die Disruption ungewünschter Gene (z.B. Gene, die am Abbau gewünschter Feinchemikalien beteiligt sind).

40 Durch die Modulation eines oder mehrerer Proteine (z.B. Sigma-Faktoren), die an der Regulation der Transkription oder Translation in Reaktion auf besondere Umweltbedingungen beteiligt sind, kann es möglich sein, die Zelle daran zu hindern, daß sie die Proteinsynthese unter ungünstigen Umweltbedingungen, wie man sie in einer Fermenterkultur im Großmaßstab antrifft, verlangsamt oder beendet. Dies sollte zu erhöhter Genexpression führen, was wiederum die gesteigerte Biosynthese gewünschter Feinchemikalien

unter diesen Bedingungen ermöglichen kann. Viele dieser sezernierten Proteine haben Funktionen, die für die Zellebensfähigkeit wichtig sind (z.B. Zelloberflächenproteasen oder -Rezeptoren). Eine Änderung des Sekretionswegs, so daß diese Proteine leichter

- 5 an ihren extrazellulären Ort transportiert werden, kann die Gesamtlebensfähigkeit der Zelle erhöhen und somit zu höheren Zahlen an C. glutamicum-Zellen führen, die Feinchemikalien während eine Züchtung im Großmaßstab produzieren können. Da ferner bestimmte bakterielle Proteinsekretionswege (z.B. das sec-System) bekannt-
- 10 lich auch an der Insertion von integralen Membranproteinen (z.B. Rezeptoren, Kanälen, Poren oder Transportern) in die Membran beteiligt sind, kann die Modulation der Aktivität von Proteinen, die an der Proteinsekretion aus C. glutamicum beteiligt sind, die Fähigkeit der Zelle zur Ausscheidung von Abfallprodukten oder zum
- 15 Import notwendiger Metabolite beeinflussen. Ist die Aktivität dieser sekretorischen Proteine erhöht, kann ebenfalls die Fähigkeit der Zelle zur Produktion von Feinchemikalien (durch ein gesteigertes Vorliegen von Transportern/Kanälen in der Membran, die Nährstoffe importieren oder Abfallprodukte ausscheiden können)
- 20 erhöht sein. Ist die Aktivität dieser sekretorischen Proteine verringert, können nicht genügend Nährstoffe zur Unterstützung der Überproduktion gewünschter Verbindungen vorhanden sein, oder Abfallprodukte können diese Biosynthese stören.
- 25 Als Ausgangspunkt zur Herstellung der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen eignet sich das Genom eines Corynebacterium glutamicum-Stammes, der von der American Type Culture Collection unter der Bezeichnung ATCC 13032 erhältlich ist.
- 30 Von diesen Nukleinsäuresequenzen lassen sich durch die in Tabelle 1 bezeichneten Veränderungen die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen mit üblichen Verfahren herstellen.

Das erfindungsgemäße SES-Protein oder ein biologisch aktiver Ab35 schnitt oder Fragment davon kann an der Reparatur oder Rekombination von DNA, Transposition von genetischem Material, Genexpression (d. h. Transkriptions- oder Translationsprozessen), Proteinfaltung oder Proteinsekretion in Corynebacterium glutamicum teilnehmen oder eine oder mehrere der in Tabelle 1 beschriebenen Ak40 tivitäten haben.

In den nachstehenden Unterabschnitten sind verschiedene Aspekte der Erfindung ausführlicher beschrieben:

Isolierte Nukleinsäuremoleküle

Ein Aspekt der Erfindung betrifft isolierte Nukleinsäuremoleküle, die SES-Polypeptide oder biologisch aktive Abschnitte davon co-5 dieren, sowie Nukleinsäurefragmente, die zur Verwendung als Hybridisierungssonden oder Primer zur Identifizierung oder Amplifizierung von SES-codierenden Nukleinsäuren (z.B. SES-DNA) hinreichen. Der Begriff "Nukleinsäuremolekül", wie hier verwendet, soll DNA-Moleküle (z.B. cDNA oder genomische DNA) und RNA-Moleküle 10 (z.B. mRNA) sowie DNA- oder RNA-Analoga, die mittels Nukleotidanaloga erzeugt werden, umfassen. Dieser Begriff umfaßt zudem die am 3'- und am 5'-Ende des codierenden Genbereichs gelegene untranslatierte Sequenz: mindestens etwa 100 Nukleotide der Sequenz stromaufwärts des 5'-Endes des codierenden Bereichs und minde-15 stens etwa 20 Nukleotide der Sequenz stromabwärts des 3'-Endes des codierenden Bereichs des Gens. Das Nukleinsäuremolekül kann einzelsträngig oder doppelsträngig sein, ist aber vorzugsweise doppelsträngige DNA. Ein "isoliertes" Nukleinsäuremolekül wird von anderen Nukleinsäuremolekülen abgetrennt, die in der natürli-20 chen Quelle der Nukleinsäure zugegen sind. Eine "isolierte" Nukleinsäure hat vorzugsweise keine Sequenzen, die die Nukleinsäure in der genomischen DNA des Organismus, aus dem die Nukleinsäure stammt, natürlicherweise flankieren (bspw. Sequenzen, die sich am 5'- bzw. 3'-Ende der Nukleinsäure befinden). In verschiedenen 25 Ausführungsformen kann bspw. das isolierte SES-Nukleinsäuremolekül weniger als etwa 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb oder 0,1 kb der Nukleotidsequenzen, die natürlicherweise das Nukleinsäuremolekül in der genomischen DNA der Zelle, aus der die Nukleinsäure stammt (bspw. eine C. glutamicum-Zelle) flankieren. 30 Ein "isoliertes" Nukleinsäuremolekül, wie ein cDNA-Molekül, kann überdies im wesentlichen frei von anderem zellulären Material oder Kulturmedium sein, wenn es durch rekombinante Techniken hergestellt wird, oder frei von chemischen Vorstufen oder anderen Chemikalien sein, wenn es chemisch synthetisiert wird.

35

Ein erfindungsgemäßes Nukleinsäuremolekül, bspw. eine Nukleinsäuremolekül mit einer Nukleotidsequenz aus Anhang A oder ein Abschnitt davon, kann mittels molekularbiologischer Standard-Techniken und der hier bereitgestellten Sequenzinformation herge-40 stellt werden. Bspw. kann eine C. glutamicum-SES-cDNA aus einer C. glutamicum-Bank isoliert werden, indem eine vollständige Sequenz aus Anhang A oder ein Abschnitt davon als Hybridisierungssonde und Standard-Hybridisierungstechniken (wie bspw. beschrieben in Sambrook, J., Fritsch, E.F. und Maniatis, T. Molecular 45 Cloning: A Laboratory Manual. 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring

Harbor, NY, 1989) verwendet werden. Überdies läßt sich ein Nu-

kleinsäuremolekül, umfassend eine vollständige Sequenz aus Anhang A oder einen Abschnitt davon, durch Polymerasekettenreaktion isolieren, wobei Oligonukleotidprimer, die auf der Basis dieser Sequenz erstellt wurden, verwendet werden (z.B. kann ein Nuklein-5 säuremolekül, umfassend eine vollständige Sequenz aus Anhang A oder einen Abschnitt davon, durch Polymerasekettenreaktion isoliert werden, indem Oligonukleotidprimer verwendet werden, die auf der Basis dieser gleichen Sequenz aus Anhang A erstellt worden sind). Bspw. läßt sich mRNA aus normalen Endothelzellen iso-10 lieren (bspw. durch das Guanidiniumthiocyanat-Extraktionsverfahren von Chirgwin et al. (1979) Biochemistry 18:5294-5299), und die cDNA kann mittels reverser Transkriptase (bspw. Moloney-MLV-Reverse-Transkriptase, erhältlich bei Gibco/BRL, Bethesda, MD, oder AMV-Reverse-Transkriptase, erhältlich von Seikagaku America, 15 Inc., St. Petersburg, FL) hergestellt werden. Synthetische Oligonukleotidprimer für die Amplifizierung via Polymerasekettenreaktion lassen sich auf der Basis einer der in Anhang A gezeigten Nukleotidsequenzen erstellen. Eine erfindungsgemäße Nukleinsäure kann mittels cDNA oder alternativ genomischer DNA als Matrize und 20 geeigneten Oligonukleotidprimern gemäß PCR-Standard-Amplifikationstechniken amplifiziert werden. Die so amplifizierte Nukleinsäure kann in einen geeigneten Vektor kloniert werden und durch DNA-Sequenzanalyse charakterisiert werden. Oligonukleotide, die einer SES-Nukleotidsequenz entsprechen, können ferner durch Stan-25 dard-Syntheseverfahren, bspw. mit einem automatischen DNA-Synthesegerät, hergestellt werden.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform umfaßt ein erfindungsgemäßes isoliertes Nukleinsäuremolekül eine der in Anhang A aufge-30 führten Nukleotidsequenzen.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfaßt ein erfindungsgemäßes isoliertes Nukleinsäuremolekül ein zu einer der in Anhang A gezeigten Nukleotidsequenzen komplementäres Nukleinsäu35 remolekül oder einen Abschnitt davon, wobei es sich um ein Nukleinsäuremolekül handelt, das zu einer der in Anhang A gezeigten Nukleotidsequenzen hinreichend komplementär ist, daß es mit einer der in Anhang A angegebenen Sequenzen hybridisieren kann, wodurch ein stabiler Duplex entsteht.

40

Bei einer Ausführungsform codiert das erfindungsgemäße Nukleinsäuremolekül ein Protein oder einen Abschnitt davon, der eine Aminosäuresequenz umfaßt, die hinreichend homolog zu einer Aminosäuresequenz von Anhang B ist, daß das Protein oder ein Abschnitt 45 davon die Fähigkeit behält, an der Reparatur oder Rekombination von DNA, Transposition von genetischem Material, Genexpression (d. h. Transkriptions- oder Translationsprozessen), Proteinfal-

tung oder Proteinsekretion in Corynebacterium glutamicum teilzunehmen. Wie hier verwendet, betrifft der Begriff "hinreichend homolog" Proteine oder Abschnitte davon, deren Aminosäuresequenzen eine minimale Anzahl identischer oder äquivalenter (bspw. einen 5 Aminosäurerest mit einer ähnlichen Seitenkette wie ein Aminosäurerest in einer der Sequenzen von Anhang B) Aminosäurereste zu einer Aminosäuresequenz aus Anhang B aufweisen, so daß das Protein oder ein Abschnitt davon an der Reparatur oder Rekombination von DNA, Transposition von genetischem Material, Genexpression 10 (d. h. Transkriptions- oder Translationsprozessen), Proteinfaltung oder Proteinsekretion in Corynebacterium glutamicum teilnehmen kann. An der genetischen Stabilität, Genexpression, Proteinfaltung oder Proteinsekretion von C. glutamicum beteiligte Proteine, wie hier beschrieben, können eine Rolle bei der Produktion 15 und Sekretion einer oder mehrerer Feinchemikalien spielen. Beispiele dieser Aktivitäten sind ebenfalls hier beschrieben. Somit trägt die "Funktion eines SES-Proteins" direkt oder indirekt zur Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion einer oder mehrerer Feinchemikalien bei. Beispiele für SES-Proteine sind in 20 Tabelle 1 gezeigt.

Abschnitte von Proteinen, die von den erfindungsgemäßen SES-Nukleinsäuremolekülen codiert werden, sind vorzugsweise biologisch aktive Abschnitte von einem der SES-Proteine. Der Begriff "biolo-25 gisch aktiver Abschnitt eines SES-Proteins", wie er hier verwendet wird, soll einen Abschnitt, bspw. eine Domäne/ein Motiv eines SES-Proteins, umfassen, die/das an der Reparatur oder Rekombination von DNA, Transposition von genetischem Material, Genexpression (d. h. Transkriptions- oder Translationsprozessen), Protein-30 faltung oder Proteinsekretion in Corynebacterium glutamicum teilnimmt oder eine der in Tabelle 1 dargestellten Aktivitäten hat. Zur Bestimmung, ob ein SES-Protein oder ein biologisch aktiver Abschnitt davon an der Reparatur oder Rekombination von DNA, Transposition von genetischem Material, Genexpression (d. h. 35 Transkriptions- oder Translationsprozessen), Proteinfaltung oder Proteinsekretion in Corynebacterium glutamicum teilnehmen kann, kann ein Test der enzymatischen Aktivität durchgeführt werden. Diese Testverfahren, wie eingehend in Beispiel 8 des Beispielteils beschrieben, sind dem Fachmann geläufig.

40

Zusätzlich zu natürlich vorkommenden Varianten der SES-Sequenz, die in der Population existieren können, ist der Fachmann sich ebenfalls bewußt darüber, daß Änderungen durch Mutation in eine Nukleotidsequenz von Anhang A eingebracht werden können, was zur Änderung der Aminosäuresequenz des codierten SES-Proteins führt, ohne daß die Funktionsfähigkeit des SES-Proteins beeinträchtigt wird. Bspw. lassen sich Nukleotidsusbtitutionen, die an "nicht-

essentiellen" Aminosäureresten zu Aminosäuresubstitutionen führen, in einer Sequenz von Anhang A herstellen. Ein "nicht-essentieller" Aminosäurerest ist ein Rest, der sich in der Wildtypsequenz von einem der SES-Proteine (Anhang B) verändern läßt, ohne daß die Aktivität des SES-Proteins verändert wird, wohingegen ein "essentieller" Aminosäurerest für die SES-Proteinaktivität erforderlich ist. Andere Aminosäurereste jedoch (bspw. nicht-konservierte oder lediglich semikonservierte Aminosäurereste in der Domäne mit SES-Aktivität) können für die Aktivität nicht essentiell sein und lassen sich somit wahrscheinlich verändern, ohne daß die SES-Aktivität verändert wird.

Ein isoliertes Nukleinsäuremolekül, das ein SES-Protein codiert, das zu einer Proteinsequenz aus Anhang B homolog ist, kann durch 15 Einbringen von einer oder mehreren Nukleotidsubstitutionen, -additionen oder -deletionen in eine Nukleotidsequenz aus Anhang A erzeugt werden, so daß eine oder mehrere Aminosäuresubstitutionen, -additionen oder -deletionen in das codierte Protein eingebracht werden. Die Mutationen können in eine der Sequenzen 20 aus Anhang A durch Standard-Techniken, wie stellengerichtete Mutagenese und PCR-vermittelte Mutagenese, eingebracht werden. Vorzugsweise werden konservative Aminosäuresubstitutionen an einem oder mehreren der vorhergesagten nicht-essentiellen Aminosäurereste eingeführt. Bei einer "konservativen Aminosäuresubstitution" 25 wird der Aminosäurerest durch einen Aminosäurerest mit einer ähnlichen Seitenkette ausgetauscht. Im Fachgebiet sind Familien von Aminosäureresten mit ähnlichen Seitenketten definiert worden. Diese Familien umfassen Aminosäuren mit basischen Seitenketten (z.B. Lysin, Arginin, Histidin), sauren Seitenketten (z.B. Aspa-30 raginsäure, Glutaminsäure), ungeladenen polaren Seitenketten (z.B. Glycin, Asparagin, Glutamin, Serin, Threonin, Tyrosin, Cystein), nicht-polaren Seitenketten, (bspw. Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin, Phenylalanin, Methionin, Tryptophan), betaverzweigten Seitenketten (z.B. Threonin, Valin, Isoleucin) und 35 aromatischen Seitenketten (z.B. Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan, Histidin). Ein vorhergesagter nicht-essentieller Aminosäurerest in einem SES-Protein wird somit vorzugsweise durch einen anderen Aminosäurerest der gleichen Seitenkettenfamilie ausgetauscht. In einer weiteren Ausführungsform können die Mutationen 40 alternativ zufallsgemäß über die gesamte oder einen Teil der SEScodierenden Sequenz eingebracht werden, bspw. durch Sättigungsmutagenese, und die resultierenden Mutanten können auf eine hier beschriebene SES-Aktivität untersucht werden, um Mutanten zu identifizieren, die eine SES-Aktivität beibehalten. Nach der Mu-45 tagenese von einer der Sequenzen aus Anhang A kann das codierte Protein rekombinant exprimiert werden, und die Aktivität des Pro-

teins kann bspw. mit den hier beschriebenen Tests (siehe Beispiel 8 des Beispielteils) bestimmt werden.

B. Rekombinante Expressionsvektoren und Wirtszellen

Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft Vektoren, vorzugsweise Expressionsvektoren, die eine Nukleinsäure enthalten, die ein SES-Protein (oder einen Abschnitt davon) codieren. Wie hier verwendet, betrifft der Begriff "Vektor" ein Nukleinsäuremolekül,

- 10 das eine andere Nukleinsäure transportieren kann, an welche es gebunden ist. Ein Vektortyp ist ein "Plasmid", was für eine zirkuläre doppelsträngige DNA-Schleife steht, in die zusätzliche DNA-Segmente ligiert werden können. Ein weiterer Vektortyp ist ein viraler Vektor, wobei zusätzliche DNA-Segmente in das virale
- 15 Genom ligiert werden können. Bestimmte Vektoren können in einer Wirtszelle, in die sie eingebracht worden sind, autonom replizieren (bspw. Bakterienvektoren mit bakteriellem Replikationsursprung und episomale Säugetiervektoren). Andere Vektoren (z.B. nicht-episomale Säugetiervektoren) werden in das Genom einer
- 20 Wirtszelle beim Einbringen in die Wirtszelle integriert und dadurch zusammen mit dem Wirtsgenom repliziert. Zudem können bestimmte Vektoren die Expression von Genen, mit denen sie funktionsfähig verbunden sind, steuern. Diese Vektoren werden hier als "Expressionsvektoren" bezeichnet. Gewöhnlich haben die Expres-
- 25 sionsvektoren, die bei DNA-Rekombinationstechniken verwendet werden können, die Form von Plasmiden. In der vorliegenden Beschreibung können "Plasmid" und "Vektor" austauschbar verwendet werden, da das Plasmid die am häufigsten verwendete Vektorform ist. Die Erfindung soll jedoch andere Expressionsvektorformen, wie virale
- 30 Vektoren (bspw. replikationsdefiziente Retroviren, Adenoviren und adenoverwandte Viren), die ähnliche Funktionen ausüben, umfassen.

Die erfindungsgemäßen rekombinanten Expressionsvektoren umfassen eine erfindungsgemäße Nukleinsäure in einer Form, die sich zur

- 35 Expression der Nukleinsäure in einer Wirtszelle eignet, d.h. daß die rekombinanten Expressionsvektoren eine oder mehrere regulatorische Sequenzen, ausgewählt auf der Basis der zur Expression zu verwendenden Wirtszellen, umfassen, die mit der zu exprimierenden Nukleinsäuresequenz funktionsfähig verbunden sind. In einem re-
- 40 kombinanten Expressionsvektor bedeutet "funktionsfähig verbunden", daß die Nukleotidsequenz von Interesse derart an die regulatorische(n) Sequenz(en) gebunden ist, daß die Expression der Nukleotidsequenz möglich ist (bspw. in einem in-vitro-Transkriptions-/Translationssystem oder in einer Wirtszelle, wenn der
- 45 Vektor in die Wirtszelle eingebracht ist). Der Begriff "regulatorische Sequenz" soll Promotoren, Enhancer und andere Expressionskontrollelemente (bspw. Polyadenylierungssignale) umfassen. Diese

regulatorischen Sequenzen sind bspw beschrieben in Goeddel: Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990). Regulatorische Sequenzen umfassen solche, die die konstitutive Expression einer Nukleotidsequenz in vielen 5 Wirtszelltypen steuern, und solche, die die Expression der Nukleotidsequenz nur in bestimmten Wirtszellen steuern. Der Fachmann ist sich dessen bewußt, daß die Gestaltung eines Expressionsvektors von Faktoren abhängen kann, wie der Wahl der zu transformierenden Wirtszelle, dem gewünschten Ausmaß der Proteinenzersion usw. Die erfindungsgemäßen Expressionsvektoren können in die Wirtszellen eingebracht werden, so daß dadurch Proteine oder Peptide, einschließlich der Fusionsproteine oder -peptide, die von den Nukleinsäuren, wie hier beschrieben, codiert werden, hergestellt werden (bspw. SES-Proteine, mutierte Formen von SES-15 Proteinen, Fusionsproteine, usw.).

Die erfindungsgemäßen rekombinanten Expressionsvektoren können zur Expression von SES-Proteinen in prokaryotischen oder eukaryotischen Zellen ausgestaltet sein. Bspw. können SES-Gene in bakte-20 riellen Zellen, wie C. glutamicum, Insektenzellen (mit Baculovirus-Expressionsvektoren), Hefe- und anderen Pilzzellen (siehe Romanos, M.A. et al. (1992) "Foreign gene expression in yeast: a review", Yeast 8: 423-488; van den Hondel, C.A.M.J.J. et al. (1991) "Heterologous gene expression in filamentous fungi" in: 25 More Gene Manipulations in Fungi, J.W. Bennet & L.L. Lasure, Hrsg., S. 396-428: Academic Press: San Diego; und van den Hondel, C.A.M.J.J. & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi. in: Applied Molecular Genetics of Fungi, Peberdy, J.F. et al., Hrsg, S. 1-28, Cambridge 30 University Press: Cambridge), Algenzellen und Zellen vielzelliger Pflanzen (siehe Schmidt, R. und Willmitzer, L. (1988) "High efficiency Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of Arabidopsis thaliana leaf and cotyledon explants" Plant Cell Rep.: 583-586) oder Säugetierzellen exprimiert werden. Geeignete 35 Wirtszellen werden weiter erörtert in Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990). Der rekombinante Expressionsvektor kann alternativ, bspw. mit regulatorischen Sequenzen des T7-Promotors und T7-Polymerase, in vitro transkribiert und translatiert werden.

Die Expression von Proteinen in Prokaryoten erfolgt meist mit Vektoren, die konstitutive oder induzierbare Promotoren enthalten, die die Expression von Fusions- oder Nicht-Fusionsproteinen steuern. Fusionsvektoren steuern eine Reihe von Aminosäuren zu einem darin codierten Protein, gewöhnlich am Aminoterminus des rekombinanten Proteins, bei. Diese Fusionsvektoren haben gewöhnlich drei Aufgaben: 1) die Verstärkung der Expression von rekom-

binantem Protein; 2) die Erhöhung der Löslichkeit des rekombinanten Proteins; und 3) die Unterstützung der Reinigung des rekombinanten Proteins durch Wirkung als Ligand bei der Affinitätsreinigung. Bei Fusions-Expressionsvektoren wird oft eine proteolytische Spaltstelle an der Verbindungsstelle der Fusionseinheit und des rekombinanten Proteins eingebracht, so daß die Trennung des rekombinanten Proteins von der Fusionseinheit nach der Reinigung des Fusionsproteins möglich ist. Diese Enzyme und ihre entsprechenden Erkennungssequenzen umfassen Faktor Xa, Thrombin und Enterokinase.

Übliche Fusionsexpressionsvektoren umfassen pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith, D.B. und Johnson, K.S. (1988) Gene 67:31-40), pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) und pRIT 5 (Pharmacia, 15 Piscataway, NJ), bei denen Glutathion-S-Transferase (GST), Maltose E-bindendes Protein bzw. Protein A an das rekombinante Zielprotein fusioniert wird. Bei einer Ausführungsform ist die codierende Sequenz des SES-Proteins in einen pGEX-Expressionsvektor kloniert, so daß ein Vektor erzeugt wird, der ein Fusionsprotein codiert, umfassend vom N-Terminus zum C-Terminus: GST - Thrombin-Spaltstelle - X-Protein. Das Fusionsprotein kann durch Affinitätschromatographie mittels Glutathion-Agarose-Harz gereinigt werden. Das rekombinante SES-Protein, das nicht mit GST fusioniert ist, kann durch Spaltung des Fusionsproteins mit Thrombin gewonnen werden.

Beispiele geeigneter induzierbarer Nicht-Fusions-E.-coli-Expressionsvektoren umfassen pTrc (Amann et al., (1988) Gene 69:301-315) und pET 11d (Studier et al. Gene Expression 30 Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Kalifornien (1990) 60-89). Die Zielgenexpression aus dem pTrc-Vektor beruht auf der Transkription durch Wirts-RNA-Polymerase von einem Hybrid-trp-lac-Fusionspromotor. Die Zielgenexpression aus dem pET 11d-Vektor beruht auf der Transkription von einem 35 T7-gn10-lac-Fusions-Promotor, die von einer coexprimierten viralen RNA-Polymerase (T7 gn1) vermittelt wird. Diese virale Polymerase wird von den Wirtsstämmen BL 21 (DE3) oder HMS174 (DE3) von einem residenten λ-Prophagen geliefert, der ein T7 gn1-Gen unter der Transkriptionskontrolle des lacUV 5-Promotors birgt.

Eine Strategie zur Maximierung der Expression des rekombinanten Proteins ist die Expression des Proteins in einem Wirtsbakterium, dessen Fähigkeit zur proteolytischen Spaltung des rekombinanten 45 Proteins gestört ist (Gottesman, S. Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Kalifornien (1990) 119-128). Eine weitere Strategie ist die Veränderung der

Nukleinsäuresequenz der in einen Expressionsvektor zu inserierenden Nukleinsäure, so daß die einzelnen Codons für jede Aminosäure diejenigen sind, die vorzugsweise in einem zur Expression ausgewählten Bakterium, wie C. glutamicum, verwendet werden (Wada et al. (1992) Nucleic Acids Res. 20:2111-2118). Diese Veränderung der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen kann durch Standard-DNA-Synthesetechniken erfolgen.

Bei einer weiteren Ausführungsform ist der SES-Protein-Expressionsvektor ein Hefe-Expressionsvektor. Beispiele für Vektoren
zur Expression in der Hefe S. cerevisiae umfassen pYepSec1 (Baldari et al., (1987) Embo J. 6:229-234), pMFa (Kurjan und Herskowitz (1982) Cell 30:933-943), pJRY88 (Schultz et al. (1987) Gene
54:113-123) sowie pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, CA).

15 Vektoren und Verfahren zur Konstruktion von Vektoren, die sich
zur Verwendung in anderen Pilzen, wie filamentösen Pilzen, eignen, umfassen diejenigen, die eingehend beschrieben sind in: van
den Hondel, C.A.M.J.J. & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems
and vector development for filamentous fungi, in: Applied Molecular Genetics of Fungi, J.F. Peberdy et al., Hrsg., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge.

Alternativ können die erfindungsgemäßen SES-Proteine in Insektenzellen unter Verwendung von Baculovirus-Expressionsvektoren exprimiert werden. Baculovirus-Vektoren, die zur Expression von Proteinen in gezüchteten Insektenzellen (bspw. Sf9-Zellen) verfügbar sind, umfassen die pAc-Reihe (Smith et al., (1983) Mol. Cell Biol.. 3:2156-2165) und die pVL-Reihe (Lucklow und Summers (1989) Virology 170:31-39).

In einer weiteren Ausführungsform können die erfindungsgemäßen SES-Proteine in Zellen einzelliger Pflanzen (wie Algen) oder in Pflanzenzellen höherer Pflanzen (bspw. Spermatophyten, wie Feldfrüchte) exprimiert werden. Beispiele für Pflanzen-Expressionsvektoren umfassen solche, die eingehend beschrieben sind in: Bekker, D., Kemper, E., Schell, J. und Masterson, R. (1992) "New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left border", Plant Mol. Biol. 20:1195-1197; und Bevan, M.W. (1984) "Binary Agrobacterium vectors for plant transformation",

In einer weiteren Ausführungsform wird eine erfindungsgemäße Nukleinsäure in Säugetierzellen mit einem Säugetier-Expressionsvektor exprimiert. Beispiele für Säugetier-Expressionsvektoren umfassen pCDM8 (Seed, B. (1987) Nature 329:840) und pMT2PC (Kaufman et al. (1987) EMBO J. 6:187-195). Bei der Verwendung in Säugetierzellen werden die Kontrollfunktionen des Expressionsvektors

oft von viralen regulatorischen Elementen bereitgestellt. Gemeinhin verwendete Promotoren stammen bspw. aus Polyoma, Adenovirus 2, Cytomegalievirus und Simian Virus 40. Weitere geeignete Expressionssysteme für prokaryotische und eukaryotische Zellen 5 siehe in Kapitel 16 und 17 von Sambrook, J., Fritsch, E.F. und Maniatis, T., Molecular cloning: A Laboratory Manual, 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989.

10 Bei einer weiteren Ausführungsform kann der rekombinante Säugetier-Expressionsvektor die Expression der Nukleinsäure vorzugsweise in einem bestimmten Zelltyp bewirken (bspw. werden gewebespezifische regulatorische Elemente zur Expression der Nukleinsäure verwendet). Gewebespezifische regulatorische Elemente sind 15 im Fachgebiet bekannt. Nicht-einschränkende Beispiele für geeignete gewebespezifische Promotoren umfassen den Albuminpromotor (leberspezifisch; Pinkert et al. (1987) Genes Dev. 1:268-277), lymphoid-spezifische Promotoren (Calame und Eaton (1988) Adv. Immunol. 43:235-275), insbesondere Promotoren von T-Zellrezeptoren 20 (Winoto und Baltimore (1989) EMBO J. 8:729-733) und Immunglobulinen (Banerji et al. (1983) Cell 33:729-740; Queen und Baltimore (1983) Cell 33:741-748), neuronenspezifische Promotoren (bspw. der Neurofilament-Promotor; Byrne und Ruddle (1989) PNAS 86:5473-5477), pankreasspezifische Promotoren (Edlund et al., 25 (1985) Science 230:912-916) und milchdrüsenspezifische Promotoren (bspw. Milchserum-Promotor; US-Patent Nr. 4 873 316 und europäische Patentanmeldungsveröffentlichung Nr. 264 166). Entwicklungsregulierte Promotoren sind ebenfalls umfaßt, bspw. die Maus-hox-Promotoren (Kessel und Gruss (1990) Science 249:374-379) und der 30 α-Fetoprotein-Promotor (Campes und Tilghman (1989) Genes Dev. 3:537-546).

Die Erfindung stellt zudem einen rekombinanten Expressionsvektor bereit, umfassend ein erfindungsgemäßes DNA Molekül, das in Antisense-Richtung in den Expressionsvektor kloniert ist. D.h. daß das DNA-Molekül derart mit einer regulatorischen Sequenz funktionsfähig verbunden ist, daß die Expression (durch Transkription des DNA-Moleküls) eines RNA-Moleküls, das zur SES-mRNA antisense ist, möglich wird. Es können regulatorische Sequenzen ausgewählt werden, die funktionsfähig an eine in Antisense-Richtung klonierte Nukleinsäure gebunden sind und die kontinuierliche Expression des Antisense-RNA-Moleküls in einer Vielzahl von Zelltypen steuern, bspw. können virale Promotoren und/oder Enhancer oder regulatorische Sequenzen ausgewählt werden, die die konstitutive, gewebespezifische oder zelltypspezifische Expression von Antisense-RNA steuern. Der Antisense-Expressionsvektor kann in Form eines rekombinanten Plasmids, Phagemids oder attenuierten Virus

vorliegen, in dem Antisense-Nukleinsäuren unter der Kontrolle eines hochwirksamen regulatorischen Bereichs produziert werden, dessen Aktivität durch den Zelltyp bestimmt wird, in den der Vektor eingebracht wird. Für eine Diskussion der Regulation der Ge-5 nexpression mittels Antisense-Genen siehe Weintraub, H. et al., Antisense-RNA as a molecular tool for genetic analysis, Reviews -Trends in Genetics, Bd. 1(1) (1986).

Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft Wirtszellen, in die 10 ein erfindungsgemäßer rekombinanter Expressionsvektor eingebracht worden ist. Die Begriffe "Wirtszelle" und "rekombinante Wirtszelle" werden hier untereinander austauschbar verwendet. Es ist selbstverständlich, daß diese Begriffe nicht nur eine bestimmte Zielzelle, sondern auch die Nachkommen oder potentiellen Nachkom-15 men dieser Zelle betreffen. Da in aufeinanderfolgenden Generationen aufgrund von Mutation oder Umwelteinflüssen bestimmte Modifikationen auftreten können, sind diese Nachkommen nicht unbedingt mit der Parentalzelle identisch, sind jedoch im Umfang des Begriffs, wie er hier verwendet wird, noch umfaßt.

20

Eine Wirtszelle kann eine prokaryotische oder eukaryotische Zelle sein. Bspw. kann ein SES-Protein in Bakterienzellen, wie C. glutamicum, Insektenzellen, Hefe- oder Säugetierzellen (wie Ovarzellen des chinesischen Hamsters (CHO) oder COS-Zellen) exprimiert 25 werden. Andere geeignete Wirtszellen sind dem Fachmann geläufig. Mikroorganismen, die mit Corynebacterium glutamicum verwandt sind und sich geeignet als Wirtszellen für die erfindungsgemäßen Nukleinsäure- und Proteinmoleküle verwenden lassen, sind in Tabelle 3 aufgeführt.

30

Durch herkömmliche Transformations- oder Transfektionsverfahren läßt sich Vektor-DNA in prokaryotische oder eukaryotische Zellen einbringen. Die Begriffe "Transformation" und "Transfektion", "Konjugation" und "Transduktion", wie sie hier verwendet werden, 35 sollen eine Vielzahl von im Stand der Technik bekannten Verfahren zum Einbringen fremder Nukleinsäure (bspw. DNA) in eine Wirtszelle umfassen, einschließlich Calciumphosphat- oder Calciumchlorid-Copräzipitation, DEAE-Dextran-vermittelter Transfektion, Lipofektion, natürlicher Kompetenz, chemisch vermittelter Übertra-40 gung oder Elektroporation. Geeignete Verfahren zur Transformation oder Transfektion von Wirtszellen lassen sich nachlesen in Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) und anderen

45 Labor-Handbüchern.

Es ist bekannt, daß für die stabile Transfektion von Säugetierzellen je nach dem verwendeten Expressionsvektor und der verwendeten Transfektionstechnik nur ein kleiner Teil der Zellen die fremde DNA in ihr Genom integrieren kann. Zur Identifizierung und 5 Selektion dieser Integranten wird gewöhnlich ein Gen, das einen selektierbaren Marker (z.B. Resistenz gegen Antibiotika) codiert, zusammen mit dem Gen von Interesse in die Wirtszellen eingebracht. Bevorzugte selektierbare Marker umfassen solche, die die Resistenz gegen Medikamente, wie G418, Hygromycin und Methotre-10 xat, verleihen. Eine Nukleinsäure, die einen selektierbaren Marker codiert, kann in eine Wirtszelle auf dem gleichen Vektor eingebracht werden, wie derjenige, der ein SES-Protein codiert, oder kann auf einem gesonderten Vektor eingebracht werden. Zellen, die mit der eingebrachten Nukleinsäure stabil transfiziert worden 15 sind, können bspw. durch Medikamentenselektion identifiziert werden (z.B. überleben Zellen, die den selektierbaren Marker integriert haben, wohingegen die anderen Zellen sterben).

Zur Erzeugung eines homolog rekombinierten Mikroorganismus wird 20 ein Vektor hergestellt, der zumindest einen Abschnitt eines SES-Gens enthält, in den eine Deletion, Addition oder Substitution eingebracht worden ist, um das SES-Gen zu verändern, bspw. funktionell zu disrumpieren. Dieses SES-Gen ist vorzugsweise ein Corynebacterium glutamicum-SES-Gen, jedoch kann ein Homologon von 25 einem verwandten Bakterium oder sogar aus einer Säugetier-, Hefeoder Insektenquelle verwendet werden. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist der Vektor derart ausgestaltet, daß das endogene SES-Gen bei homologer Rekombination funktionell disrumpiert ist (d.h. nicht länger ein funktionelles Protein codiert; auch als 30 "Knockout"-Vektor bezeichnet). Der Vektor kann alternativ derart ausgestaltet sein, daß das endogene SES-Gen bei homologer Rekombination mutiert oder anderweitig verändert ist, jedoch noch das funktionelle Protein codiert (z.B. kann der stromaufwärts gelegene regulatorische Bereich derart verändert sein, daß dadurch 35 die Expression des endogenen SES-Proteins verändert wird.). Der veränderte Abschnitt des SES-Gens ist im homologen Rekombinationsvektor an seinem 5'- und 3'-Ende von zusätzlicher Nukleinsäure des SES-Gens flankiert, die eine homologe Rekombination zwischen dem exogenen SES-Gen, das von dem Vektor getragen wird, und einem 40 endogenen SES-Gen in einem Mikroorganismus ermöglicht. Die zusätzliche flankierende SES-Nukleinsäure ist für eine erfolgreiche homologe Rekombination mit dem endogenen Gen hinreichend lang. Gewöhnlich enthält der Vektor mehrere Kilobasen flankierende DNA (sowohl am 5'- als auch am 3'-Ende) (siehe z.B. Thomas, K.R. und 45 Capecchi, M.R. (1987) Cell 51:503 für eine Beschreibung von homo-

logen Rekombinationsvektoren). Der Vektor wird in einen Mikroorganismus (z.B. durch Elektroporation) eingebracht, und Zellen, in

denen das eingebrachte SES-Gen mit dem endogenen SES-Gen homolog rekombiniert ist, werden unter Verwendung im Fachgebiet bekannter Verfahren selektiert.

PCT/EP02/12138

5 Bei einer anderen Ausführungsform können rekombinante Mikroorganismen produziert werden, die ausgewählte Systeme enthalten, die eine regulierte Expression des eingebrachten Gens ermöglichen. Der Einschluß eines SES-Gens in einen Vektor, wodurch es unter die Kontrolle des Lac-Operons gebracht wird, ermöglicht z.B. die 10 Expression des SES-Gens nur in Gegenwart von IPTG. Diese regulatorischen Systeme sind im Fachgebiet bekannt.

Eine erfindungsgemäße Wirtszelle, wie eine prokaryotische oder eukaryotische Wirtszelle in Kultur, kann zur Produktion (d.h. Ex15 pression) eines SES-Proteins verwendet werden. Die Erfindung stellt zudem Verfahren zur Produktion von SES-Proteinen unter Verwendung der erfindungsgemäßen Wirtszellen bereit. Bei einer Ausführungsform umfaßt das Verfahren die Anzucht der erfindungsgemäßen Wirtszelle (in die ein rekombinanter Expressionsvektor, der ein SES-Protein codiert, eingebracht worden ist, oder in deren Genom ein Gen eingebracht worden ist, das ein Wildtyp- oder verändertes SES-Protein codiert) in einem geeigneten Medium, bis das SES-Protein produziert worden ist. Das Verfahren umfaßt in einer weiteren Ausführungsform das Isolieren der SES-Proteine aus dem Medium oder der Wirtszelle.

C. Erfindungsgemäße Verwendungen und Verfahren

Die hier beschriebenen Nukleinsäuremoleküle, Proteine, Proteinho-30 mologa, Fusionsproteine, Primer, Vektoren und Wirtszellen können in einem oder mehreren nachstehenden Verfahren verwendet werden: Identifikation von C. glutamicum und verwandten Organismen, Kartierung von Genomen von Organismen, die mit C. glutamicum verwandt sind, Identifikation und Lokalisation von C. glutamicum-Se-35 quenzen von Interesse, Evolutionsstudien, Bestimmung von SES-Proteinbereichen, die für die Funktion notwendig sind, Modulation der Aktivität eines SES-Proteins; Modulation des Stoffwechsels einer oder mehrerer Zellmembrankomponenten; Modulation des Transmembrantransports einer oder mehrerer Verbindungen und Modulation 40 der zellulären Produktion einer gewünschten Verbindung, wie einer Feinchemikalie. Die erfindungsgemäßen SES-Nukleinsäuremoleküle haben eine Vielzahl von Verwendungen. Sie können zunächst zur Identifikation eines Organismus als Corynebacterium glutamicum oder naher Verwandter davon verwendet werden. Sie können zudem 45 zur Identifikation des Vorliegens von C. glutamicum oder eines Verwandten davon in einer Mischpopulation von Mikroorganismen verwendet werden. Die Erfindung stellt die Nukleinsäuresequenzen

einer Reihe von C. glutamicum-Genen bereit. Durch Sondieren der extrahierten genomischen DNA einer Kultur einer einheitlichen oder gemischten Population von Mikroorganismen unter stringenten Bedingungen mit einer Sonde, die einen Bereich eines C. glutami-5 cum-Gens überspannt, das für diesen Organismus einzigartig ist, kann man bestimmen, ob dieser Organismus zugegen ist. Corynebacterium glutamicum selbst ist zwar nicht pathogen, jedoch ist es mit pathogenen Arten, wie Corynebacterium diptheriae, verwandt. Der Nachweis eines solchen Organismus ist von signifikanter klinischer Bedeutung.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäure- und Proteinmoleküle können ferner als marker für bestimmte Bereiche des Genoms dienen. Dies eignet sich nicht nur zum Kartieren des Genoms, sondern auch für 15 funktionelle Studien von C. glutamicum-Proteinen. Zur Identifikation des Genombereichs, an den ein bestimmtes C. glutamicum-DNAbindendes Protein bindet, kann das C. glutamicum-Genom bspw. gespalten und die Fragmente mit dem DNA-bindenden Protein inkubiert werden. Diejenigen, die das Protein binden, können zusätzlich mit 20 den erfindungsgemäßen Nukleinsäuremolekülen, vorzugsweise mit leicht nachweisbaren Markierungen, sondiert werden; die Bindung eines solchen Nukleinsäuremoleküls an das Genomfragment ermöglicht die Lokalisation des Fragmentes auf der genomischen Karte von C. glutamicum, und wenn dies mehrmals mit unterschiedlichen 25 Enzymen durchgeführt wird, erleichtert es eine rasche Bestimmung der Nukleinsäuresequenz, an die das Protein bindet. Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle können zudem hinreichend homolog zu den Sequenzen verwandter Arten sein, so daß diese Nukleinsäuremoleküle als Marker zur Konstruktion einer genomischen Karte 30 in verwandten Bakterien (z.B. Brevibacterium lactofermentum) dienen können.

Die erfindungsgemäßen SES-Nukleinsäuremoleküle eignen sich ebenfalls für Evolutions- und Proteinstruktur-Untersuchungen. Die

35 Stoffwechsel- und Transportprozesse, an denen die erfindungsgemäßen Moleküle beteiligt sind, werden von einer Vielzahl von prokaryotischen und eukaryotischen Zellen ausgenutzt; durch Vergleich der Sequenzen der erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle mit solchen, die ähnliche Enzyme aus anderen Organismen codieren, kann der Evolutions-Verwandschaftsgrad der Organismen bestimmt werden. Entsprechend ermöglicht ein solcher Vergleich die Bestimmung, welche Sequenzbereiche konserviert sind und welche nicht, was bei der Bestimmung solcher Bereiche des Proteins hilfreich sein kann, die für die Enzymfunktion essentiell sind. Dieser Typ der Bestimmung ist für Proteintechnologie-Untersuchungen wertvoll und kann

einen Hinweis darauf geben, wieviel Mutagenese das Protein tolerieren kann ohne die Funktion zu verlieren.

43

Die Manipulation der erfindungsgemäßen SES-Nukleinsäuremoleküle

5 kann die Produktion von SES-Proteinen mit funktionellen Unterschieden zu den Wildtyp-SES-Proteinen bewirken. Diese Proteine
können hinsichtlich ihrer Effizienz oder Aktivität verbessert
werden, können in größerer Anzahl als gewöhnlich in der Zelle zugegen sein oder können hinsichtlich ihrer Effizienz oder Aktivi
10 tät geschwächt sein.

Diese Modulation der Aktivität von Proteinen, die an der DNA-Reparatur, Rekombination oder Transposition in C. glutamicum beteiligt sind, sollte die genetische Stabilität der Zelle beeinflus-15 sen. Beispielsweise kann man durch Verringern der Anzahl oder Aktivität von Proteinen, die an DNA-Reparaturmechanismen beteiligt sind, die Fähigkeit der Zelle, genetische Fehler zu korrigieren, verringern, was das einfachere Einbringen gewünschter Mutationen in das Genom (wie solchen, die an der Feinchemikalienproduktion 20 beteiligte Proteine codieren) ermöglichen sollte. Die Steigerung der Aktivität oder Anzahl von Transposons sollte ebenso zu einer erhöhten Mutationsrate im Genom führen und kann die leichte Verdopplung gewünschter Gene (bspw. solcher, die an der Feinchemikalienproduktion beteiligte Proteine codieren) oder Disruption un-25 erwünschter Gene (z.B. solcher, die Feinchemikalien-Abbauproteine codieren) möglich machen. Dagegen kann es durch Verringern der Anzahl oder Aktivität von Transposons oder Erhöhen der Anzahl oder Aktivität von DNA-Reparaturproteinen möglich sind, die genetische Stabilität von C. glutamicum zu erhöhen, was wiederum zur 30 besseren Aufrechterhaltung eingebrachter Mutationen in diesen Mikroorganismen durch mehrere Generationen in Kultur führen sollte. Idealerweise wird während der Mutagenese und Stammkonstruktion die Aktivität eines oder mehrerer DNA-Reparatursysteme verringert und die Aktivität eines oder mehrerer Transposons erhöht, aber 35 wenn die gewünschte Mutation in dem Stamm erzielt worden ist, tritt das Gegenteil auf. Diese Manipulation ist möglich, indem ein oder mehrere DNA-Reparaturgene oder Transposons unter die Kontrolle eines induzierbaren Repressors gestellt wird/werden.

40 Die Modulation von an der Transkription und Translation in C. glutamicum beteiligten Proteinen kann direkte und indirekte Wirkungen auf die Produktion einer Feinchemikalien von diesen Mikroorganismen haben. Beispielsweise ist es durch Manipulation eines Proteins, das direkt ein Gen translatiert (z.B. einer Polymerase) oder direkt die Transkription reguliert (eines Repressor- oder Aktivatorproteins) möglich, die Expression des Zielgens direkt zu beeinflussen. Bei Genen, die ein Protein codieren, das an der

Biosynthese oder am Abbau einer Feinchemikalie beteiligt ist sollte dieser Typ der genetischen Manipulation eine direkte Wirkung auf die Produktion dieser Feinchemikalie haben. Die Mutagenese eines Repressorproteins, so daß es sein Zielgen nicht länger 5 reprimieren kann, oder die Mutagenese eines Aktivatorproteins, so daß seine Aktivität optimiert wird, sollte zu einer erhöhten Transkription des Zielgens führen. Ist das Zielgen z.B. ein Feinchemikalienbiosynthesegen, kann eine erhöhte Produktion dieser Chemikalie aufgrund der insgesamt größeren Anzahl an für vorlie-10 genden Transkripten dieses Gens resultieren, was ebenfalls zu einer vergrößerten Anzahl des Proteins führen sollte. Die Erhöhung der Anzahl oder Aktivität eines Repressorproteins für eine Zielsequenz oder die Verringerung der Anzahl oder Aktivität eines Aktivatorproteins für eine Zielsequenz sollte, wenn diese Sequenz 15 bspw. ein Feinchemikalien-Abbauprotein ist, zu einer ähnlichen Steigerung der Produktion der Feinchemikalie führen.

Auch indirekte Wirkungen auf die Feinchemikalienproduktion können aus der Manipulation von Proteinen, die an der Transkription und 20 Translation beteiligt sind, hervorgehen. Durch die Modulation der Aktivität oder Anzahl von Transkriptionsfaktoren (z.B. der Sigma-Faktoren) oder von Translationsrepressoren/-aktivatoren, die die Transkription in C. glutamicum in Reaktion auf Umwelt- oder Stoffwechselfaktoren global regulieren, sollte es möglich sein, 25 die zelluläre Transkription von der Umwelt- oder Stoffwechselregulation abzukoppeln. Dies könnte wiederum eine kontinuierliche Transkription unter Bedingungen ermöglichen, die gewöhnlich die Genexpression verlangsamen oder beenden würden, wie ungünstigen Bedingungen (z.B. hohe Temperatur, niedriger Sauerstoffgehalt, 30 hoher Spiegel an Abfallprodukten), die in einer Fermenterkultur im Großmaßstab vorliegen. Durch Erhöhen der Rate der Expression des Gens (z.B. Feinchemikalienbiosynthesegens) in diesen Situationen kann auch, zumindest aufgrund der vergleichsweise größeren Anzahl der Feinchemikalienbiosyntheseproteine in der Zelle, die 35 Gesamtrate der Feinproduktproduktion erhöht werden. Prinzipien und Beispiele für die Modifikation der Transkriptions- und Translationsregulation sind beschrieben in z.B. Lewin, B. (1990) Genes IV, Teil 3: "Controlling procaryotic genes by transcription", Oxford Univ. Press: Oxford, S. 213-301.

40

Die Modulation der Aktivität oder Anzahl von Proteinen, die an der Polypeptidfaltung beteiligt sind (z.B. Chaperone) kann insgesamt die Erhöhung der Produktion korrekt gefalteter Moleküle in der Zelle ermöglichen. Dies hat zwei Auswirkungen: zunächst insgesamt eine Erhöhung der Anzahl an Proteinen in der Zelle aufgrund der Tatsache, daß weniger Proteine falsch gefaltet und abgebaut werden und, zweitens, eine Erhöhung der Anzahl eines gege-

benen Proteins, das korrekt gefaltet und somit aktiv ist (s. z.B. Thomas, J.G., Baneyx, F. (1997) Protein Expression and Purification 11(3):289-296; Luo, Z.H., und Hua, Z.C. (1998) Biochemistry and Molecular Biology International 46(3):471-477; Dale, G.E., et al. (1994) Protein Engineering 7(7):925-931; Amrein, K.E. et al. (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 92(4):1048-1052 und Caspers, P., et al. (1994) Cell. Mol. Biol. 40(5):635-644). Solche Mutationen führen zwar zu einer Erhöhung der Anzahl aktiver Proteine jeder Art, aber wenn sie mit zusätzlichen Mutationen, die die Aktivität oder Anzahl von z.B. einem Feinchemikalienbiosyntheseprotein erhöhen, gekoppelt werden, kann eine additive Wirkung auf die Menge an korrekt gefaltetem aktivem gewünschtem Protein erhalten werden.

15 Die Manipulation von Proteinen, die an der Sekretion von Polypeptiden aus C. glutamicum beteiligt sind, so daß ihre Aktivität oder Anzahl verbessert ist, kann die Sekretion einer proteinartigen Feinchemikalie (z.B. eines Enzyms) aus diesem Mikroorganismus direkt verbessern. Es ist erheblich leichter, Feinchemikalien 20 zu ernten und zu reinigen, wenn sie in das Medium einer Kultur im Großmaßstab sezerniert werden als wenn sie in der Zelle zurückgehalten werden, so daß die Ausbeute und Produktion einer Feinchemikalie durch diese Veränderung des Sekretionssystems erhöht werden sollte. Die genetische Manipulationen dieser Sekretionspro-25 teine kann auch zu direkten Verbesserungen der Produktion einer oder mehrerer Feinchemikalien führen. Erstens kann die gesteigerte oder verringerte Aktivität eines oder mehrerer C. glutamicum-Sekretionssysteme (wie sie durch Mutagenese eines oder mehrerer SES-Proteine, die an diesen Wegen beteiligt sind, erzielt 30 wird) zu insgesamt erhöhten oder verringerten Sekretionsraten aus der Zelle führen. Viele dieser sezernierten Proteine haben Funktionen, die für die Zellebensfähigkeit wichtig sind (z.B. Zelloberflächenproteasen oder -Rezeptoren). Eine Änderung des Sekretionswegs, so daß diese Proteine leichter an ihren extrazellulären 35 Ort transportiert werden, kann die Gesamtlebensfähigkeit der Zelle erhöhen und somit zu höheren Zahlen an C. glutamicum-Zellen führen, die Feinchemikalien während eine Züchtung im Großmaßstab produzieren können. Zweitens spielen bestimmte bakterielle Sekretionssysteme (z.B. das sec-System) bekanntlich auch eine signifi-40 kante Rolle bei dem Prozeß, durch den integrale Membranproteinen (z.B. Kanäle, Poren oder Transporter) in die Zellmembran inserieren. Wird die Aktivität eines oder mehrerer Sekretionswegproteine gesteigert, kann die Fähigkeit der Zelle, Feinchemikalien zu pro-

duzieren, aufgrund des Vorliegens erhöhten intrazellulärer Nähr-45 stoffmengen oder verringerter Mengen an intrazellulären Abfallstoffen ebenfalls erhöht werden. Ist die Aktivität eines oder mehrerer dieser Sekretionswegproteine verringert, können nicht

genügend Nährstoffe zur Unterstützung der Überproduktion gewünschter Verbindungen vorhanden sein, oder Abfallprodukte können diese Biosynthese stören.

5 Diese vorstehend genannten Mutagenesestrategien für SES-Proteine, die erhöhte Ausbeuten einer Feinchemikalie aus C. glutamicum bewirken sollen, sollen nicht einschränkend sein; Variationen dieser Mutagenesestrategien sind dem Fachmann leicht ersichtlich. Unter Verwendung dieser Strategien und einschließlich der hier 10 offenbarten Mechanismen können die erfindungsgemäßen Nukleinsäure- und Proteinmoleküle verwendet werden, um C. glutamicumoder verwandte Bakterienstämme, die mutierte SES-Nukleinsäureund Proteinmoleküle exprimieren, zu erzeugen, so daß die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion einer ge-15 wünschten Verbindung verbessert wird. Die gewünschte Verbindung kann jedes von C. glutamicum hergestellte Produkt sein, einschließlich der Endprodukte von Biosynthesewegen und Zwischenprodukte natürlich vorkommender Stoffwechselwege sowie Moleküle, die im Metabolismus von C. glutamicum nicht natürlich vorkommen, die 20 jedoch von einem erfindungsgemäßen C. glutamicum-Stamm produziert werden.

Diese Erfindung wird durch die nachstehenden Beispiele weiter veranschaulicht, die nicht als einschränkend aufgefaßt werden 25 sollen. Die Inhalte sämtlicher, in dieser Patentanmeldung zitierter Literaturstellen, Patentanmeldungen, Patente und veröffentlichter Patentanmeldungen sind hiermit durch Bezugnahme aufgenommen.

30 Beispiele

- Beispiel 1: Präparation der gesamten genomischen DNA aus Corynebacterium glutamicum ATCC13032
- 35 Eine Kultur von Corynebacterium glutamicum (ATCC 13032) wurde über Nacht bei 30°C unter starkem Schütteln in BHI-Medium (Difco) gezüchtet. Die Zellen wurden durch Zentrifugation geerntet, der Überstand wurde verworfen, und die Zellen wurden in 5ml Puffer I (5% des Ursprungsvolumens der Kultur sämtliche angegebenen Vo-
- 40 lumina sind für 100 ml Kulturvolumen berechnet) resuspendiert.
 Zusammensetzung von Puffer I: 140,34 g/l Saccharose, 2,46 g/l
 MgSO₄ · 7 H₂O, 10 ml/l KH₂PO₄-Lösung (100g/l, mit KOH auf pH-Wert
 6,7 eingestellt), 50 ml/l M12-Konzentrat (10 g/l (NH₄)₂SO₄, 1 g/l
 NaCl, 2 g/l MgSO₄ · 7 H₂O, 0,2 g/l CaCl₂, 0,5 g/l Hefe-Extrakt
- **45** (Difco), 10 ml/l Spurenelemente-Mischung (200 mg/l FeSO₄ · H₂O, 10 mg/l ZnSO₄ · 7 H₂O, 3 mg/l MnCl₂ · 4 H₂O, 30 mg/l H₃BO₃, 20 mg/l CoCl₂ · 6 H₂O, 1 mg/l NiCl₂ · 6 H₂O, 3 mg/l Na₂MoO₄ · 2 H₂O, 500 mg/l

Komplexbildner (EDTA oder Citronensäure), 100 ml/l Vitamingemisch (0,2 ml/l Biotin, 0,2 mg/l Folsäure, 20 mg/l p-Aminobenzoesäure, 20 mg/l Riboflavin, 40 mg/l Ca-Panthothenat, 140 mg/l Nikotinsäure, 40 mg/l Pyridoxolhydrochlorid, 200 mg/l Myo-Inositol). Ly-5 sozym wurde in einer Endkonzentration von 2,5 mg/ml zur Suspension gegeben. Nach etwa 4 Std. Inkubation bei 37°C wurde die Zellwand abgebaut, und die erhaltenen Protoplasten wurden durch Zentrifugation geerntet. Das Pellet wurde einmal mit 5 ml Puffer I und einmal mit 5 ml TE-Puffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH-Wert 10 8) gewaschen. Das Pellet wurde in 4 ml TE-Puffer resuspendiert, und 0,5 ml SDS-Lösung (10%) und 0,5 ml NaC1-Lösung (5 M) wurden zugegeben. Nach Zugabe von Proteinase K in einer Endkonzentration von 200 μg/ml wurde die Suspension etwa 18 Std. bei 37°C inkubiert. Die DNA wurde durch Extraktion mit Phenol, Phenol-Chloro-15 form-Isoamylalkohol und Chloroform-Isoamylalkohol mittels Standard-Verfahren gereinigt. Dann wurde die DNA durch Zugabe von 1/50 Volumen 3 M Natriumacetat und 2 Volumina Ethanol, anschließender Inkubation für 30 min bei −20°C und 30 min Zentrifugation bei 12000 U/min in einer Hochgeschwindigkeitszentrifuge mit einem 20 SS34-Rotor (Sorvall) gefällt. Die DNA wurde in 1 ml TE-Puffer gelöst, der 20 µg/ml RNase A enthielt, und für mindestens 3 Std. bei 4°C gegen 1000 ml TE-Puffer dialysiert. Während dieser Zeit wurde der Puffer 3mal ausgetauscht. Zu Aliquots von 0,4 ml der dialysierten DNA-Lösung wurden 0,4 ml 2 M LiCl und 0,8 ml Ethanol 25 zugegeben. Nach 30 min Inkubation bei -20°C wurde die DNA durch Zentrifugation gesammelt (13000 U/min, Biofuge Fresco, Heraeus, Hanau, Deutschland). Das DNA-Pellet wurde in TE-Puffer gelöst. Durch dieses Verfahren hergestellte DNA konnte für alle Zwecke verwendet werden, einschließlich Southern-Blotting oder zur Kon-30 struktion genomischer Banken.

Beispiel 2: Konstruktion genomischer Corynebacterium glutamicum (ATCC13032)-Banken in Escherichia coli

- 35 Ausgehend von DNA, die wie in Beispiel 1 beschrieben hergestellt wurde, wurden gemäß bekannter und gut eingeführter Verfahren (siehe bspw. Sambrook, J. et al. (1989) "Molecular Cloning: A Laboratory Manual". Cold Spring Harbor Laboratory Press oder Ausubel, F.M. et al. (1994) "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley & Sons) Cosmid- und Plasmid-Banken hergestellt.
 - Es ließ sich jedes Plasmid oder Cosmid einsetzen. Besondere Verwendung fanden die Plasmide pBR322 (Sutcliffe, J.G. (1979) Proc. Natl Acad. Sci. USA, 75:3737-3741); pACYC177 (Change & Cohen
- 45 (1978) J. Bacteriol. 134:1141-1156); Plasmide der pBS-Reihe (pBSSK+, pBSSK- und andere; Stratagene, LaJolla, USA) oder Cosmide, wie SuperCosl (Stratagene, LaJolla, USA) oder Lorist6

(Gibson, T.J. Rosenthal, A., und Waterson, R.H. (1987) Gene 53: 283-286.

Beispiel 3: DNA-Sequenzierung und Computer-Funktionsanalyse

Genomische Banken, wie in Beispiel 2 beschrieben, wurden zur DNA-Sequenzierung gemäß Standard-Verfahren, insbesondere dem Kettenabbruchverfahren mit ABI377-Sequenziermaschinen (s. z.B. Fleischman, R.D. et al. (1995) "Whole-genome Random Sequencing and Assembly of Haemophilus Influenzae Rd., Science 269:496-512) verwendet. Die Sequenzierprimer mit den folgenden Nukleotidsequenzen wurden verwendet: 5'-GGAAACAGTATGACCATG-3' oder 5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3'.

15 Beispiel 4: In-vivo-Mutagenese

In vivo-Mutagenese von Corynebacterium glutamicum kann durchgeführt werden, indem eine Plasmid- (oder andere Vektor-) DNA durch
E.coli oder andere Mikroorganismen (z.B. Bacillus spp. oder He20 fen, wie Saccharomyces cerevisiae) geschleust wird, die die Integrität ihrer genetischen Information nicht aufrechterhalten können. Übliche Mutatorstämme weisen Mutationen in den Genen für das
DNA-Reparatursystem auf (z.B., mutHLS, mutD, mutT, usw., zum Vergleich siehe Rupp, W.D. (1996) DNA repair mechanisms, in: Esche25 richia coli and Salmonella, S. 2277-2294, ASM: Washington). Diese
Stämme sind dem Fachmann bekannt. Die Verwendung dieser Stämme
ist bspw. in Greener, A. und Callahan, M. (1994) Strategies
7:32-34 veranschaulicht.

30 Beispiel 5: DNA-Transfer zwischen Escherichia coli und Corynebacterium glutamicum

Mehrere Corynebacterium— und Brevibacterium—Arten enthalten endogene Plasmide (wie bspw. pHM1519 oder pBL1) die autonom replizie—35 ren (für einen Überblick siehe bspw. Martin, J.F. et al. (1987) Biotechnology 5:137-146). Shuttle-Vektoren für Escherichia coli und Corynebacterium glutamicum lassen sich leicht mittels Standard-Vektoren für E. coli konstruieren (Sambrook, J. et al., (1989), "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Cold Spring
40 Harbor Laboratory Press oder Ausubel, F.M. et al. (1994) "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley & Sons), denen ein Replikationsursprung für und ein geeigneter Marker aus Corynebacterium glutamicum beigegeben wird. Solche Replikationsursprünge werden vorzugsweise von endogenen Plasmiden entnommen, die aus 45 Corynebacterium— und Brevibactertium—Arten isoliert worden sind. Besondere Verwendung als Transformationsmarker für diese Arten sind Gene für Kanamycin—Resistenz (wie solche, die vom Tn5- oder

10 102:93-98).

Tn-903-Transposon stammen) oder für Chloramphenicol (Winnacker, E.L. (1987) "From Genes to Clones - Introduction to Gene Technology, VCH, Weinheim). Es gibt zahlreiche Beispiele in der Literatur für die Herstellung einer großen Vielzahl von Shuttle-Vektoren, die in E. coli und C. glutamicum replizieren und für verschiedene Zwecke verwendet werden können, einschließlich Gen-Überexpression (siehe bspw. Yoshihama, M. et al. (1985) J. Bacteriol. 162:591-597, Martin, J.F. et al., (1987) Biotechnology, 5:137-146 und Eikmanns, B.J. et al. (1992) Gene

PCT/EP02/12138

Mittels Standard-Verfahren ist es möglich, ein Gen von Interesse in einen der vorstehend beschriebenen Shuttle-Vektoren zu klonieren und solche Hybrid-Vektoren in *Corynebacterium glutamicum*-

- 15 Stämme einzubringen. Die Transformation von *C. glutamicum* läßt sich durch Protoplastentransformation (Kastsumata, R. et al., (1984) J. Bacteriol. 159:306-311), Elektroporation (Liebl, E. et al., (1989) FEMS Microbiol. Letters, 53:399-303) und in Fällen, bei denen spezielle Vektoren verwendet werden, auch durch Konju-
- 20 gation erzielen (wie z.B. beschrieben in Schäfer, A., et (1990) J. Bacteriol. 172:1663-1666). Es ist ebenfalls möglich, die Shuttle-Vektoren für C. glutamicum auf E. coli zu übertragen, indem Plasmid-DNA aus C. glutamicum (mittels im Fachgebiet bekannter Standard-Verfahren) präpariert und in E. coli transformiert
- 25 wird. Dieser Transformationsschritt kann mit Standard-Verfahren erfolgen, jedoch wird vorteilhafterweise ein Mcr-defizienter E. coli-Stamm verwendet, wie NM522 (Gough & Murray (1983) J. Mol. Biol. 166:1-19).
- 30 Beispiel 6: Bestimmung der Expression des mutanten Proteins

Die Beobachtungen der Aktivität eines mutierten Proteins in einer transformierten Wirtszelle beruhen auf der Tatsache, daß das mutante Protein auf ähnliche Weise und in ähnlicher Menge expri-

- 35 miert wird wie das Wildtyp-Protein. Ein geeignetes Verfahren zur Bestimmung der Transkriptionsmenge des mutanten Gens (ein Anzeichen für die mRNA-Menge, die für die Translation des Genprodukts verfügbar ist) ist die Durchführung eines Northern-Blots (s. bspw. Ausubel et al., (1988) Current Protocols in Molecular Bio-
- 40 logy, Wiley: New York), wobei ein Primer, der so ausgestaltet ist, daß er an das Gen von Interesse bindet, mit einer nachweisbaren (gewöhnlich radioaktiven oder chemilumineszierenden) Markierung versehen wird, so daß wenn die Gesamt-RNA einer Kultur des Organismus extrahiert, auf einem Gel aufgetrennt, auf eine
- 45 stabile Matrix übertragen und mit dieser Sonde inkubiert wird die Bindung und die Quantität der Bindung der Sonde das Vorliegen und auch die Menge der mRNA für dieses Gen anzeigt. Diese Infor-

20

WO 03/040180 PCT/EP02/12138 50

mation ist ein Hinweis auf das Ausmaß der Transkription des mutanten Gens. Gesamt-Zell-RNA läßt sich durch verschiedene Verfahren aus Corynebacterium glutamicum isolieren, die im Fachgebiet bekannt sind, wie in Bormann, E.R. et al., (1992) Mol. Mi-5 crobiol. 6:317-326 beschrieben.

Zur Bestimmung des Vorliegens oder der relativen Menge an Protein, das von dieser mRNA translatiert wird, können Standard-Techniken, wie Western-Blot, eingesetzt werden (s. bspw. Ausubel 10 et al. (1988) "Current Protocols in Molecular Biology", Wiley, New York). Bei diesem Verfahren werden Gesamt-Zellproteine extrahiert, durch Gelelektrophorese aufgetrennt, auf eine Matrix, wie Nitrocellulose, übertragen und mit einer Sonde, wie einem Antikörper, die an das gewünschte Protein spezifisch bindet, inku-15 biert,. Diese Sonde ist gewöhnlich mit einer chemilumineszierenden oder colorimetrischen Markierung versehen, die sich leicht nachweisen läßt. Das Vorliegen und die beobachtete Menge an Markierung zeigt das Vorliegen und die Menge des gesuchten Mutantenproteins in der Zelle an.

Beispiel 7: Wachstum von genetisch verändertem Corynebacterium glutamicum - Medien und Anzuchtbedingungen

Genetisch veränderte Corynebakterien werden in synthetischen oder 25 natürlichen Wachstumsmedien gezüchtet. Eine Anzahl unterschiedlicher Wachstumsmedien für Corynebakterian sind bekannt und leicht erhältlich (Lieb et al. (1989) Appl. Microbiol. Biotechnol. 32:205-210; von der Osten et al. (1998) Biotechnology Letters 11:11-16; Patent DE 4 120 867; Liebl (1992) "The Genus 30 Corynebacterium", in: The Procaryotes, Bd. II, Balows, A., et

- al., Hrsg. Springer-Verlag). Diese Medien bestehen aus einer oder mehreren Kohlenstoffquellen, Stickstoffquellen, anorganischen Salzen, Vitaminen und Spurenelementen. Bevorzugte Kohlenstoffquellen sind Zucker, wie Mono-, Di- oder Polysaccharide. Sehr
- 35 gute Kohlenstoffquellen sind bspw. Glucose, Fructose, Mannose, Galactose, Ribose, Sorbose, Ribulose, Lactose, Maltose, Saccharose, Raffinose, Stärke oder Cellulose. Man kann Zucker auch über komplexe Verbindungen, wie Melassen, oder andere Nebenprodukte der Zucker-Raffinierung zu den Medien geben. Es kann auch vor-
- 40 teilhaft sein, Gemische verschiedener Kohlenstoffquellen zuzugeben. Andere mögliche Kohlenstoffquellen sind Alkohole und organische Säuren, wie Methanol, Ethanol, Essigsäure oder Milchsäure. Stickstoffquellen sind gewöhnlich organische oder anorganische Stickstoffverbindungen oder Materialien, die diese Verbindungen
- 45 enthalten. Beispielhafte Stickstoffquellen umfassen Ammoniak-Gas oder Ammoniumsalze, wie NH4Cl oder (NH4)2SO4, NH4OH, Nitrate, Harnstoff, Aminosäuren oder komplexe Stickstoffquellen, wie Mais-

WO 03/040180 51

quellwasser, Sojamehl, Sojaprotein, Hefeextrakt, Fleischextrakt und andere.

PCT/EP02/12138

Anorganische Salzverbindungen, die in den Medien enthalten sein 5 können, umfassen die Chlorid-, Phosphor- oder Sulfatsalze von Calcium, Magnesium, Natrium, Kobalt, Molybdän, Kalium, Mangan, Zink, Kupfer und Eisen. Chelatbildner können zum Medium gegeben werden, um die Metallionen in Lösung zu halten. Besonders geeignete Chelatbildner umfassen Dihydroxyphenole, wie Catechol oder 10 Protocatechuat, oder organische Säuren, wie Citronensäure. Die Medien enthalten üblicherweise auch andere Wachstumsfaktoren, wie Vitamine oder Wachstumsförderer, zu denen bspw. Biotin, Riboflavin, Thiamin, Folsäure, Nikotinsäure, Panthothenat und Pyridoxin gehören. Wachstumsfaktoren und Salze stammen häufig von komplexen 15 Medienkomponenten, wie Hefeextrakt, Melassen, Maisquellwasser und dergleichen. Die genaue Zusammensetzung der Medienverbindungen hängt stark vom jeweiligen Experiment ab und wird für jeden spezifischen Fall individuell entschieden. Information über die Medienoptimierung ist erhältlich aus dem Lehrbuch "Applied Micro-20 biol. Physiology, A Practical Approach" (Hrsg. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) S. 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Wachstumsmedien lassen sich auch von kommerziellen Anbietern beziehen, wie Standard 1 (Merck) oder BHI (Brain heart infusion,

25

DIFCO) oder anderen.

Sämtliche Medienkomponenten werden, entweder durch Hitze (20 min bei 1,5 bar und 121°C) oder durch Sterilfiltration, sterilisiert. Die Komponenten können entweder zusammen oder nötigenfalls getrennt sterilisiert werden. Sämtliche Medienkomponenten können zu 30 Beginn der Anzucht zugegen sein oder wahlfrei kontinuierlich oder chargenweise hinzugegeben werden.

Die Anzuchtbedingungen werden für jedes Experiment gesondert definiert. Die Temperatur sollte zwischen 15°C und 45°C liegen und kann während des Experimentes konstant gehalten oder verändert werden. Der pH-Wert des Mediums sollte im Bereich von 5 bis 8,5, vorzugsweise um 7,0 liegen, und kann durch Zugabe von Puffern zu den Medien aufrechterhalten werden. Ein beispielhafter Puffer für diesen Zweck ist ein Kaliumphosphatpuffer. Synthetische Puffer, wie MOPS, HEPES; ACES usw., können alternativ oder gleichzeitig verwendet werden. Der Anzucht-pH-Wert läßt sich während der Anzucht auch durch Zugabe von NaOH oder NH4OH konstant halten. Werden komplexe Medienkomponenten, wie Hefe-Extrakt, verwendet, sinkt der Bedarf an zusätzlichen Puffern, da viele komplexe Verbindungen eine hohe Pufferkapazität aufweisen. Beim Einsatz eines

Fermenters für die Anzucht von Mikroorganismen kann der pH-Wert auch mit gasförmigem Ammoniak reguliert werden.

Die Inkubationsdauer liegt gewöhnlich in einem Bereich von mehre-5 ren Stunden bis zu mehreren Tagen. Diese Zeit wird so ausgewählt, daß sich die maximale Menge Produkt in der Brühe ansammelt. Die offenbarten Wachstumsexperimente können in einer Vielzahl von Behältern, wie Mikrotiterplatten, Glasröhrchen, Glaskolben oder Glas- oder Metallfermentern unterschiedlicher Größen durchgeführt 10 werden. Zum Screening einer großen Anzahl von Klonen sollten die Mikroorganismen in Mikrotiterplatten, Glasröhrchen oder Schüttelkolben, entweder mit oder ohne Schikanen, gezüchtet werden. Vorzugsweise werden 100-ml-Schüttelkolben verwendet, die mit 10% (bezogen auf das Volumen) des erforderlichen Wachstumsmediums ge-15 füllt sind. Die Kolben sollten auf einem Kreiselschüttler (Amplitude 25 mm) mit einer Geschwindigkeit im Bereich von 100-300 U/ min geschüttelt werden. Verdampfungsverluste können durch Aufrechterhalten einer feuchten Atmosphäre verringert werden; alternativ sollte für die Verdampfungsverluste eine mathematische Kor-20 rektur durchgeführt werden.

Werden genetisch modifizierte Klone untersucht, sollte auch ein unmodifizierter Kontrollklon oder ein Kontrollklon getestet werden, der das Basisplasmid ohne Insertion enthält. Das Medium wird auf eine OD600 von 0,5 - 1,5 angeimpft, wobei Zellen verwendet werden, die auf Agarplatten, wie CM-Platten (10 g/l Glucose, 2,5 g/l NaCl, 2 g/l Harnstoff, 10 g/l Polypepton, 5 g/l Hefeextrakt, 5 g/l Fleischextrakt, 22 g/l Agar pH-Wert 6,8 mit 2 M NaOH), die bei 30°C inkubiert worden sind, gezüchtet wurden. Das Animpfen der Medien erfolgt entweder durch Einbringen einer Kochsalzlösung von C. glutamicum-Zellen von CM-Platten oder durch Zugabe einer flüssigen Vorkultur dieses Bakteriums.

Beispiel 8: In-vitro-Analyse der Funktion mutanter Proteine

Die Bestimmung der Aktivitäten und kinetischen Parameter von Enzymen ist im Fachgebiet gut bekannt. Experimente zur Bestimmung der Aktivität eines bestimmten veränderten Enzyms müssen an die spezifische Aktivität des Wildtypenzyms angepaßt werden, was innerhalb der Fähigkeiten des Fachmann liegt. Überblicke über Enzyme im allgemeinen sowie spezifische Einzelheiten, die die Struktur, Kinetiken, Prinzipien, Verfahren, Anwendungen und Beispiele zur Bestimmung vieler Enzymaktivitäten betreffen, können bspw. in den nachstehenden Literaturstellen gefunden werden: Dixon, M., und Webb, E.C: (1979) Enzymes, Longmans, London; Fersht (1985) Enzyme Structure and Mechanism, Freeman, New York; Walsh (1979) Enzymatic Reaction Mechanisms. Freeman, San Francisco;

Price, N.C., Stevens, L. (1982) Fundamentals of Enzymology.
Oxford Univ. Press: Oxford; Boyer, P.D: Hrsg. (1983) The Enzymes,
3. Aufl., Academic Press, New York; Bisswanger, H. (1994)
Enzymkinetik, 2. Aufl. VCH, Weinheim (ISBN 3527300325); Berg5 meyer, H.U., Bergmeyer, J., Graßl, M. Hrsg. (1983-1986) Methods
of Enzymatic Analysis, 3. Aufl. Bd. I-XII, Verlag Chemie:
Weinheim; und Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry
(1987) Bd. A9, "Enzymes", VCH, Weinheim, S. 352-363.

PCT/EP02/12138

- 10 Die Aktivität von Proteinen, die an DNA binden, kann durch viele gut eingeführte Verfahren gemessen werden, wie DNA-Banden-Shift-Assays (die auch als Gelretardations-Assays bezeichnet werden). Die Wirkung dieser Proteine auf die Expression anderer Moleküle kann mit Reportergen-Assays (wie in Kolmar, H. et al., (1995)
- 15 EMBO J. 14:3895-3904 und den darin zitierten Literaturstellen beschrieben) gemessen werden. Reportergen-Testsysteme sind wohlbekannt und für Anwendungen in pro- und eukaryotischen Zellen etabliert, wobei Enzyme, wie beta-Galactosidase, Grün-Fluoreszenz-Protein und mehrere andere verwendet werden.

Die Bestimmung der Aktivität von Membran-Transportproteinen kann gemäß Techniken, wie sie in Gennis, R.B. (1989) "Pores, Channels and Transporters", in Biomembranes, Molecular Structure and Function, Springer: Heidelberg, S. 85-137; 199-234; und 270-322 beschrieben sind, erfolgen.

- Beispiel 9: Analyse des Einflusses von mutiertem Protein auf die Produktion des gewünschten Produktes
- 30 Die Wirkung der genetischen Modifikation in C. glutamicum auf die Produktion einer gewünschten Verbindung (wie einer Aminosäure) kann bestimmt werden, indem die modifizierten Mikroorganismen unter geeigneten Bedingungen (wie den vorstehend beschriebenen) gezüchtet werden und das Medium und/oder die zellulären Komponenten
- 35 bezüglich der erhöhten Produktion des gewünschten Produktes (d.h. einer Aminosäure) untersucht wird/werden. Solche Analysetechniken sind dem Fachmann wohlbekannt und umfassen Spektroskopie, Dünnschichtchromatographie, Färbeverfahren verschiedener Art, enzymatische und mikrobiologische Verfahren sowie analytische Chromato-
- 40 graphie, wie Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (s. bspw. Ullman, Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. A2, S. 89-90 und S. 443-613, VCH: Weinheim (1985); Fallon, A., et al., (1987) "Applications of HPLC in Biochemistry" in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17; Rehm et al. (1993)
- 45 Biotechnology, Bd. 3, Kapitel III: "Product recovery and purification", S. 469-714, VCH: Weinheim; Belter, P.A. et al. (1988) Bioseparations: downstream processing for Biotechnology,

John Wiley and Sons; Kennedy, J.F. und Cabral, J.M.S. (1992)
Recovery processes for biological Materials, John Wiley and Sons;
Shaeiwitz, J.A. und Henry, J.D. (1988) Biochemical Separations,
in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. B3; Kapitel 11, S. 1-27, VCH: Weinheim; und Dechow, F.J. (1989) Separation and purification techniques in biotechnology, Noyes Publications).

Zusätzlich zur Messung des Fermentationsendproduktes ist es eben10 falls möglich, andere Komponenten der Stoffwechselwege zu analysieren, die zur Produktion der gewünschten Verbindung verwendet werden, wie Zwischen- und Nebenprodukte, um die Gesamt-Effizienz der Produktion der Verbindung zu bestimmen. Die Analyseverfahren umfassen Messungen der Nährstoffmengen im Medium (bspw. Zucker,
15 Kohlenwasserstoffe, Stickstoffquellen, Phosphat und andere Ionen), Messungen der Biomassezusammensetzung und des Wachstums, Analyse der Produktion gemeinsamer Metabolite von Biosynthesewegen und Messungen von Gasen, die während der Fermentation erzeugt werden. Standardverfahren für diese Messungen sind in Applied Microbial Physiology; A Practical Approach, P.M. Rhodes und P.F. Stanbury, Hrsg. IRL Press, S. 103-129; 131-163 und 165-192 (ISBN: 0199635773) und den darin angegebenen Literaturstellen beschrieben.

25 Beispiel 10: Reinigung des gewünschten Produktes aus C. glutamicum-Kultur

Die Gewinnung des gewünschten Produktes aus C. glutamicum-Zellen oder aus dem Überstand der vorstehend beschriebenen Kultur kann durch verschiedene, im Fachgebiet bekannte Verfahren erfolgen. Wird das gewünschte Produkt von den Zellen nicht sezerniert, können die Zellen aus der Kultur durch langsame Zentrifugation geerntet werden, die Zellen können durch Standard-Techniken, wie mechanische Kraft oder Ultraschallbehandlung, lysiert werden. Die Zelltrümmer werden durch Zentrifugation entfernt, und die Überstandsfraktion, die die löslichen Proteine enthält, wird zur weiteren Reinigung der gewünschten Verbindung erhalten. Wird das Produkt von den C. glutamicum-Zellen sezerniert, werden die Zellen durch langsame Zentrifugation aus der Kultur entfernt, und die Überstandsfraktion wird zur weiteren Reinigung behalten.

Die Überstandsfraktion aus beiden Reinigungsverfahren wird einer Chromatographie mit einem geeigneten Harz unterworfen, wobei das gewünschte Molekül entweder auf dem Chromatographieharz zurückge45 halten wird, viele Verunreinigungen in der Probe jedoch nicht, oder die Verunreinigungen auf dem Harz zurückbleiben, die Probe hingegen nicht. Diese Chromatographieschritte können nötigenfalls

wiederholt werden, wobei die gleichen oder andere Chromatographieharze verwendet werden. Der Fachmann ist in der Auswahl der geeigneten Chromatographieharze und ihrer wirksamsten Anwendung für ein bestimmtes zu reinigendes Molekül bewandert. Das gerei-5 nigte Produkt kann durch Filtration oder Ultrafiltration konzentriert und bei einer Temperatur aufbewahrt werden, bei der die Stabilität des Produktes maximal ist.

Im Fachgebiet sind viele Reinigungsverfahren bekannt, und das 10 vorhergehende Reinigungsverfahren soll nicht einschränkend sein. Diese Reinigungstechniken sind bspw. beschrieben in Bailey, J.E. & Ollis, D.F. Biochemical Engineering Fundamentals, McGraw-Hill: New York (1986).

- 15 Die Identität und Reinheit der isolierten Verbindungen kann durch Techniken des Standes der Technik bestimmt werden. Diese umfassen Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), spektroskopische Verfahren, Färbeverfahren, Dünnschichtchromatographie, NIRS, Enzymtest oder mikrobiologische Tests. Diese Analyseverfahren
- 20 sind zusammengefaßt in: Patek et al. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60:133-140; Malakhova et al. (1996) Biotekhnologiya 11 27-32; und Schmidt et al. (1998) Bioprocess Engineer. 19:67-70. Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (1996) Bd. A27, VCH: Weinheim, S. 89-90, S. 521-540, S. 540-547, S. 559-566,
- 25 575-581 und S. 581-587; Michal, G (1999) Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology, John Wiley and Sons; Fallon, A. et al. (1987) Applications of HPLC in Biochemistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17.

30

Äquivalente

Der Fachmann erkennt oder kann - indem er lediglich Routineverfahren verwendet - viele Äquivalente der erfindungsgemäßen spezi-35 fischen Ausführungsformen feststellen. Diese Äquivalente sollen von den nachstehenden Patentansprüchen umfaßt sein.

Die Angaben in Tabelle 1 sind folgendermassen zu verstehen:

40 In Spalte 1"DNA-ID" bezieht sich die jeweilige Zahl auf die SEQ ID NO des anhängenden Sequenzprotokolls. Eine "5" in der Spalte "DNA-ID" bedeutet demzufolge ein Verweis auf SEQ ID NO:5.

In Spalte 2"AS-ID" bezieht sich die jeweilige Zahl auf die SEQ ID 45 NO des anhängenden Sequenzprotokolls. Eine "6" in der Spalte "AS-ID" bedeutet demzufolge ein Verweis auf SEQ ID NO:6.

56

In Spalte 3"Identifikation" wird eine eindeutige interne Bezeichnung für jede Sequenz aufgeführt.

- In Spalte 4 "AS-POS" bezieht sich die jeweilige Zahl auf die Ami5 nosäureposition der Polypeptidsequenz "AS-ID" in der gleichen
 Zeile. Eine "26" in der Spalte "AS-POS" bedeutet demzufolge die
 Aminosäureposition 26 der entsprechend angegebenen Polypeptidsequenz. Die Zählung der Position beginnt N-Terminal bei +1.
- 10 In Spalte 5 "AS-Wildtyp" bezeichnet der jeweilige Buchstabe die Aminosäure dargestellt im Ein-Buchstaben-Code- an der in Spalte 4 angegebenen Position beim entsprechenden Wildtyp-Stamm.
- In Spalte 6 "AS-Mutante" bezeichnet der jeweilige Buchstabe die 15 Aminosäure – dargestellt im Ein-Buchstaben-Code- an der in Spalte 4 angegebenen Position beim entsprechenden Mutanten-Stamm.

In Spalte 7"Funktion" wird die physiologische Funktion der entsprechenden Polypeptidsequenz aufgeführt.

20

Ein-Buchstaben-Code der proteinogenen Aminosäuren:

- A Alanin
- C Cystein
- 25 D Aspartat
 - E Glutamat
 - F Phenylalanin
 - G Glycin
 - H His
- 30 I Isoleucin
 - K Lysin
 - L Leucin
 - M Methionin
 - N Asparagin
- 35 P Prolin
 - Q Glutamin
 - R Arginin
 - S Serin
 - T Threonin
- 40 V Valin
 - W Tryptophan
 - Y Tyrosin

Tabelle 1

Gene die für genetische Stabilitäts-, Genexpressions- und Faltungsproteine codieren

Funktion:		SINGLE-STRANDED-DNA-SPECIFIC EXONUCLEASE RECJ (EC 3.1)	SINGLE-STRANDED-DNA-SPECIFIC EXONUCLEASE RECJ (EC 3.1)	SINGLE-STRANDED-DNA-SPECIFIC EXONUCLEASE RECJ (EC 3.1)	DNA POLYMERASE I (EC 2.7.7.7)	GLUTAMYL-TRNA(GLN) AMIDOTRANSFERASE SUBUNIT A (EC 6.3.5)	GLUTAMYL-TRNA(GLN) AMIDOTRANSFERASE SUBUNIT A (EC 6.3.5)	GLUTAMYL-TRNA(GLN) AMIDOTRANSFERASE SUBUNIT B (EC 6.3.5)	CYSTEINYL-TRINA SYNTHETASE (EC 6.1.1.16)	GLUTAMYL-TRNA SYNTHETASE (EC 6.1.1.17)	60 KD CHAPERONIN GROEL	TRANSCRIPTION ELONGATION FACTOR GREA	TRNA PSEUDOURIDINE SYNTHASE A (EC 4.2.1.70)	LEUCYL-TRNA SYNTHETASE (EC 6.1.1.4)	PROLYL ENDOPEPTIDASE (EC 3.4.21.26)	Protein Translation Elongation Factor G (EF-G)	Bacterlal Protein Translation Elongation Factor Tu (EF-TU)
AS	Mutante	Ø	_	တ	z	4	u_	-	¥	u.	-	>	H	ဟ	တ	_	z
AS	Wildtyp	۵	-	<u>a</u>	Ø	>	_	>	ш	٦	∢	∢	A	۵	Ø	H	D
AS	Pos:	337	405	504	754	414	454	44	319	170	363	23	89	989	704	543	164
Identifikation:		RXA00019			RXA00061	RXA00209		RXA00211	RXA00314	RXA00458	RXA00493	HXA00588	HXA00669	RXA01061	RXA01277	RXA01278	RXA01284
AS	ë	Ø			4	9		۵	9	12	4	16	18	20	22	24	56
DNA	ë				က	ស		7	6	Ξ	13	5	17	19	24	53	53

Bacterial Protein Translation Elongation Factor Till (EF-TII)	DNA-DIRECTED RNA POLYMERASE BETA CHAIN (EC 2.7.7.6)	DNA-DIRECTED RNA POLYMERASE BETA CHAIN (EC 2.7.7.6)	DNAK PROTEIN	TRANSCRIPTIONAL REPRESSOR	THIOREDOXIN	FERREDOXIN—NADP REDUCTASE (EC 1.18.1.2)	TRNA PSEUDOURIDINE SYNTHASE B (EC 4.2.1.70)	Na+ DRIVEN MULTIDRUG EFFLUX PUMP	PROTEIN TRANSLOCASE SUBUNIT SECD	DNA REPAIR PROTEIN RECN	DNA REPAIR PROTEIN RECN	TRANSPOSASE	TRANSPOSASE	TRANSCRIPTIONAL REGULATOR	HISTIDYL-TRNA SYNTHETASE (EC 6.1.1.21)	Protein Translation Elongation Factor Ts (EF-Ts)	MENAQUINOL-CYTOCHROME C REDUCTASE CYTOCHROME B SUBUNIT	integration host factor	DNA (CYTOSINE-5)-METHYLTRANSFERASE (EC 2.1.1.37)	HEAT SHOCK PROTEIN HTPG	COME OPERON PROTEIN 3	COME OPERON PROTEIN 3
щ	٦	>	>	-	-	⊢	>	>	V	ပ	۵	ш	ш	Ø	တ	ш	-1	ш.	H	>	×	Σ
ဟ	۵	۵	⋖.	-	∢	∢	∢	∢	-	œ	Ø	Ø	٦	<u>o</u>	۵		۵	_	V	¥	ш	>
362	ß	459	308	108	46	182	277	32	400	334	493	7	33	69	120	61	321	42	65	502	401	451
	RXA01344		RXA01345	RXA01404	RXA01431	RXA01438	RXA01490	RXA01493	RXA01559	RXA01596		RXA01651		RXA01710	RXA01852	RXA01913	RXA02145	RXA02236	RXA02267	RXA02280	RXA02388	
	78		30	35	34	36	38	40	45	44		46		48	20	52	54	26	28	09	62	
	27		29	31	33	35	37	39	41	43		45		47	49	51	53	55	22	59	61	

EXCINUCLEASE ABC SUBUNIT A	Bacterial Protein Translation Initiation Factor 3 (IF-3)	PHOTEIN THANSLOCASE SUBUNIT SECA	DNA POLYMERASE IV	ATP-DEPENDENT DNA HELICASE RECG	A/G-SPECIFIC ADENINE GLYCOSYLASE (EC 3.2.2)	ISOLEUCYL-TRNA SYNTHETASE (EC 6.1.1.5)	EXCINUCLEASE ABC SUBUNIT B	EXCINUCLEASE ABC SUBUNIT B	EXCINUCLEASE ABC SUBUNIT B	PUTATIVE OXPPCYCLE PROTEIN OPCA	DNA/RNA HELICASE (DEAD/DEAH BOX FAMILY)	SIGNAL RECOGNITION PARTICLE, SUBUNIT FFH/SRP54	SIGNAL RECOGNITION PARTICLE, SUBUNIT FFH/SRP54	THANSPOSASE	DNA alkylation repair enzyme	D-Tyr-tRNATyr deacylase	THANSPOSASE	METHIONYL-TRNA SYNTHETASE (EC 6.1.1.10)	ATP-DEPENDENT HELICASE HEPA	RNA POLYMERASE SIGMA FACTOR RPOD	PS1 PROTEIN PRECURSOR	PS1 PROTEIN PRECURSOR
۵	-	-	>	ш	L	>	¥	_	_	ıL	ဟ	တ	۵	>	z	۵	ட	щ	_	>	ш	۵
Ø	>	Σ	¥	Ø	S	A	Ш	Σ	ш	S	g	<u>α</u>	<u>ق</u>	¥	Ø	g	S	S	>	¥	٦.	L
484	45	670	73	17	167	286	374	398	410	312	179	100	164	249	164	98	56	1	342	414	ო	4
HXA02416	HXA02418	HXA02429	HXA02431	RXA02445	HXA02476	HXA02726	RXA02731			HXA02736	HXA02742	RXA02748		HXA03070	RXA03098	HXA03206	HXA03260	RXA03394	RXA03674	RXA03793	RXA06048	
64	99	89	20	72	74	92	78			80	82	84		86	88	06	35	94	96	86	100	
83	95	29	69	71	23	75	11			23	81	83		82	87	83	91	63	92	26	66	

PS1 PROTEIN PRECURSOR	PROBABLE ATP-DEPENDENT HELICASE LHR (EC 3.6.1)	EXODEOXYRIBONUCLEASE VII LARGE SUBUNIT (EC 3.1.11.6)				
-	>	-	z	٥	တ	_
∢	_	တ	ဟ	z	۵	۵
6	56	31	99	158	339	239
					RXA07005	103 104 RXA07006
					101 102	104
					101	103

PS1 PROTEIN PRECURSOR

ഗ

2

Patentansprüche

Isoliertes Nukleinsäuremolekül codierend für ein Polypeptid 1. 5 mit der jeweils in Tabelle1/Spalte2 in Bezug genommenen Aminosäuresequenz wobei das Nukleinsäuremolekül in der in Tabelle1/Spalte4 angegebenenen Aminosäureposition eine andere proteinogene Aminosäure codiert als die jeweilige in Tabelle1/Spalte5 in der gleichen Zeile angegebene Aminosäure.

10

Isoliertes Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1, wobei das 2. Nukleinsäuremolekül in der in Tabelle1/Spalte4 angegebenenen Aminosäureposition die in Tabelle1/Spalte6 in der gleichen Zeile angegebene Aminosäure codiert.

15

- Ein Vektor, der wenigstens eine Nukleinsäuresequenz nach An-3. spruch 1 enthält.
- Eine Wirtszelle, die mit wenigstens einem Vektor nach An-4. 20 spruch 3 transfiziert ist.
 - Eine Wirtszelle nach Anspruch 4, wobei die Expression des be-5. sagten Nukleinsäuremoleküls zur Modulation der Produktion einer Feinchemikalie aus besagter Zelle führt.

25

Verfahren zur Herstellung einer Feinchemikalie welches die 6. Kultivierung einer Zelle beinhaltet, die mit wenigstens einen Vektor nach Anspruch 3 transfiziert worden ist, so dass die Feinchemikalie produziert wird.

30

- Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die 7. Feinchemikalie eine Aminosäure ist.
- Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die 35 Aminosäure Lysin ist.

40

SEQUENCE LISTING

<110> BASF Aktiengesellschaft

<120> Gene die für genetische Stabilitäts-, Genexpressionsund Faltungsproteine codieren

<130	O < C	.Z.	0050	/529	74											
<160)> 10	14														
<213 <213	0> 1 L> 19 2> DI 3> Co	NA.	ebact	teri	um gi	lutar	micu	m								
<222)> L> C! 2> (: 3> R!	101)		960)												
)> 1 ggata	acc 1	ttat	yaaa	ca co	ctgg	tgag	c gg	tg t g'	tttc	acc	ccaa	caa (ccga	gtaaaa	60
tata	atcta	agt a	actai	tttt	ac ga	attga	aaag	t aga	attt:	ttct	_			acc Thr		115
														att Ile 20		163
														aac Asn		211
														gca Ala		259
														acc Thr		307
														ggt Gly		355
														cgt Arg 100		403
														ctc Leu		451
														tcc Ser		499

										~						
	ggt Gly 135	Ile	~	_	-		Glu	_			_	Val	-	_	aca Thr	547
			_		_	_		_	_	_	_		_		aac Asn 165	595
	aac Asn	-	_	_		_				Lys	_		_			643
	gtc Val															691
	aag Lys						_	_	_	_						739
	ctc Leu 215															787
	cag Gln															835
	cgt Arg															883
	acg Thr															931
	ttc Phe														ctg Leu	979
_	gcg Ala 295		-	-		_			_							1027
	ggc Gly															1075
	gac Asp															1123
	tca Ser															1171
	att Ile															1219
	gcc Ala 375															1267

										J						
	gag Glu															1315
	gag Glu															1363
	tca Ser															1411
	ctc Leu															1459
	gcc Ala 455															1507
~	gca Ala			_	-								_	-		1555
	gca Ala															1603
	aac Asn															1651
	gct Ala															1699
	ttt Phe 535															1747
	gca Ala															1795
	gtg Val															1843
cag Gln	cag Gln	ctc Leu	gat Asp 585	gag Glu	atc Ile	gca Ala	cag Gln	tct Ser 590	gaa Glu	tta Leu	gtc Val	acc Thr	atg Met 595	tct Ser	gtg Val	1891
	ctc Leu															1939
	tct Ser 615						tago	ttgg	ıtt g	_{JC} ata	agca	ac ca	aaaa	ecaac	2	1990

<210> 2 <211> 620 <212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 2

Met Thr Val Thr Ser Pro Ala Ala Leu Ala Leu Ser Asp Met Ser Tyr 1 5 10 15

Val Asp Ile Ile Lys Lys Lys Arg Gly Trp Thr Thr Glu Phe Phe His 20 25 30

Ser Thr Ile Asn Thr Gly Glu Thr Thr Pro Leu Pro Asp Ser Asp 40 45

Arg Ala Thr Ala Leu Ile His Asp His Ile Thr Lys Ala Gln Glu Ile
50 55 60

Thr Ile Ile Thr Asp Phe Asp Met Asp Gly Ile Ser Ala Gly Val Ile
65 70 75 80

Ala Tyr Ala Gly Leu Ala Glu Leu Gly Ala Gln Val Asn Met Val Val 85 90 95

Pro Asp Tyr Arg Gly Glu Arg Asn Val Thr Ala Ser Asp Ile Asp Arg 100 105 110

Ala Leu Glu Leu Tyr Pro Ala Thr Ser Leu Ile Ile Thr Cys Asp Val 115 120 125

Gly Ile Gly Ser His Glu Gly Ile Ala Arg Ala His Glu Arg Ser Ile 130 135 140

Ala Val Leu Val Thr Asp His His Met Glu Val Glu Pro Cys Gln Ala 145 150 155 160

Asp Val Val Leu Asn Pro Asn Arg Ile Asp Ser Asp Tyr Pro Asn Lys 165 170 175

Asp Ile Cys Gly Ala Gln Val Ile Phe Ala Thr Leu Ser Asp Tyr Ala 180 185 190

Arg Arg Tyr Arg Ala Asp Lys Ile Ile Asp Ile Asn Leu Leu Ala Val 195 200 205

Phe Ser Gly Ile Gly Ala Leu Ala Asp Val Met Pro Leu Thr Arg Asp 210 215 220

Thr Arg Pro Thr Val Lys Gln Ala Ile Ala Leu Leu Arg Leu Ala Ile 225 230 235 240

Pro Gln Val Ser Lys Asn Arg Phe Gly Gly Trp Asp Thr Tyr Ala Ala 245 250 255

Arg Ser Val Asn Pro Asp Thr Ser Thr Leu Met His Ile Val Asn Ala 260 265 270

Ser Gln His Asp His Arg Phe Ile Ala Ala Phe Gln Gly Ile Ser Ile 275 280 285

Leu Leu Gly Glu Leu Ile Ala Gln Lys Lys Leu Val Asn Ile Asp Asn 290 295 300

Ile Ser Glu Ser Phe Ile Gly Phe Thr Leu Gly Pro Met Phe Asn Ala 305 310 315 320

Thr Arg Arg Val Gly Gly Asp Met His Asp Ser Phe Leu Val Phe Ala 330 Pro His Ala Ala Leu Ala Ser Gln Pro Ser Met Asn Pro Asn Arg His 345 Ala Ala Ile Ser Arg Ile Ile Asp Asn Asn Glu Arg Arg Lys Glu Leu 360 Ser Lys Ser Ser Tyr Ala Ala Val His Ser Ser Asp Gln Pro Tyr Ala Pro Phe Val Trp Leu Ser Glu Ala Pro Ser Gly Ile Leu Gly Leu Ile 390 395 Ala Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ser Asp Val Pro Ala Ile Val Ile Asn 405 410 Pro Asp Thr Leu Ser Gly Ser Ala Arg Ser Pro Glu Trp Ala Pro Ile 425 Ile Thr Gln Val Asn Thr Leu Ser Ala Gln Gly His Gly Gly Ile His 440 Ala Ala Gly His Glu Tyr Ala Cys Gly Met Arg Phe Asp Asn His Asp 455 Asp Ile Val Thr Phe Val Ala Thr Leu Asp Ala Leu Asp Lys Asn Thr 470 Pro Arg Glu Ala Gln Pro Ala Asp Leu His Leu Val Asp Ile Asp His 490 485 Ala Arg Pro Val Leu Asp Asn Pro Ser Leu Thr Gln Glu Leu Ser Thr 505 Val Asp Ala Ala Val Asp Ala Ala Gln Leu Leu Val Leu Ile Asp Gln 520 515 Leu Asp Gln Leu Gln Pro Phe Gly His Gly Phe Thr Tyr Pro Arg Ile 535 Asp Val Thr Phe Arg Pro Ala Glu Thr Glu Phe Lys Val Met Gly Gln 545 His His Gln His Leu Lys Val Ile Thr His Ser Gly Leu Thr Leu Leu 570 Trp Trp Asn Lys Ala Gln Gln Leu Asp Glu Ile Ala Gln Ser Glu Leu 585 Val Thr Met Ser Val Glu Leu Asp Val Asn Met Phe Arg Gly Phe Ile 600 Ser Pro Gln Gly Ile Val Ser Ala Cys Thr Val Ile 615

<210> 3

<211> 2845

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS <222> (101)..(2815) <223> RXA00061

<400> 3 aatcaattgc agaa	ctaacc cggt	tgtttc cg	agccagtc	tgaatgad	ctg aaago	caatat	60
tagaccatca atga	ttagga atgg	aaatta ggg	ggtctggt	ttg ggt Leu Gly 1	gaa tgt Glu Cys	gtc Val 5	115
gct aat ttt tcc Ala Asn Phe Ser							163
gac cag acc tta Asp Gln Thr Leu 25	Met Leu Il	c gac ggc e Asp Gly 30	cac tcg His Ser	atg gct Met Ala	ttc cgc Phe Arg 35	gca Ala	211
ttc ttt gct ttg Phe Phe Ala Leu 40	ccg gct ga Pro Ala Gl	g aat ttc u Asn Phe 45	tcc acg Ser Thr	tcg ggc Ser Gly 50	ggg cag Gly Gln	gcc Ala	259
acc aat gct gtc Thr Asn Ala Val 55	Tyr Gly Pl	t ctc tcg e Leu Ser 0	atg ctg Met Leu	tcc acg Ser Thr 65	ttg ttg Leu Leu	aag Lys	307
gat gag cag cct Asp Glu Gln Pro 70	act cat gt Thr His Va 75	g gcg gtg 1 Ala Val	gct ttc Ala Phe 80	gat gtg Asp Val	ggg cgt Gly Arg	aag Lys 85	355
acg ttc cgt acc Thr Phe Arg Thr	gat atg tt Asp Met Pl 90	c ccg gcg e Pro Ala	tat aag Tyr Lys 95	gcg cag Ala Gln	cgt gaa Arg Glu 100	gca Ala	403
acg cca cct gag Thr Pro Pro Glu 105	Phe Lys G	c cag gtg y Gln Val 110	gaa atc Glu Ile	ctc aag Leu Lys	gag gtg Glu Val 115	ttg Leu	451
tcc act ttg gga Ser Thr Leu Gly 120	att acg ac Ile Thr Ti	t att gag r Ile Glu 125	aaa atc Lys Ile	gat ttt Asp Phe 130	gag gct Glu Ala	gat Asp	499
gat gtg atc gcc Asp Val Ile Ala 135	acg ttg to Thr Leu Se 14	r Val Ala	gcg aaa Ala Lys	cct tta Pro Leu 145	ggc ttt Gly Phe	aag Lys	547
acg ctg att gti Thr Leu Ile Val 150	acg ggt ga Thr Gly As 155	c cgt gat p Arg Asp	tcc ttc Ser Phe 160	cag ttg Gln Leu	gtc aat Val Asn	gac Asp 165	595
acc acc acg gto Thr Thr Thr Va.	ttg tat co Leu Tyr Pi 170	g atg aag o Met Lys	ggc gtg Gly Val 175	tct gtg Ser Val	ctg cac Leu His 180	cgt Arg	643
ttc acg ccg gas Phe Thr Pro Glu 18	ı Ala Val G	g gag aag u Glu Lys 190	Tyr Gly	ctg aca Leu Thr	ccg agg Pro Arg 195	cag Gln	691
tat ccg gag tt Tyr Pro Glu Pho 200	gca gcg ct Ala Ala Le	g cgt ggt u Arg Gly 205	gat cct Asp Pro	tcc gat Ser Asp 210	aac ttg Asn Leu	cct Pro	739
aat att cct gg	gtg ggc g	ıg aag act	gct acc	aag tgg	att gcc	cag	787

										,						
Asn	Ile 215	Pro	Gly	Val	Gly	Glu 220	Lys	Thr	Ala	Thr	Lys 225	Trp	Ile	Ala	G1n	
tat Tyr 230	gaa Glu	act Thr	ttg Leu	gat Asp	aat Asn 235	ttg Leu	ctt Leu	gat Asp	cac His	gct Ala 240	gat Asp	gag Glu	atc Ile	aag Lys	ggc Gly 245	835
aag Lys	gtt Val	ggc Gly	gc c Ala	agc Ser 250	ctg Leu	cgt Arg	gag Glu	cgc Arg	att Ile 255	gag Glu	cag G1n	gtc Val	cgg Arg	atg Met 260	aac Asn	883
cgc Arg	aag Lys	ctc Leu	acg Thr 265	gag Glu	atg Met	gtg Val	aag Lys	gat Asp 270	ctg Leu	gag Glu	ctg Leu	ccg Pro	ctt Leu 275	ggt Gly	ccg Pro	931
gac Asp	gat Asp	ttt Phe 280	gag Glu	atg Met	aag Lys	cct Pro	gtg Val 285	cag Gln	gtt Va1	gcg A1a	gag Glu	gtt Val 290	gcg Ala	gcg A1a	aag Lys	979
ttt Phe	gac Asp 295	gat Asp	ctg Leu	gag Glu	ttt Phe	ggt Gly 300	acc Thr	aat Asn	ttg Leu	cgt Arg	gag Glu 305	cgg Arg	gtg Val	ctg Leu	gcg Ala	1027
gtg Val 310	gtg Val	aag Lys	gcc Ala	gag Glu	ggt Gly 315	tcc Ser	gct A1a	gcc Ala	ccc Pro	gtg Val 320	gag Glu	gaa Glu	gtg Val	gaa Glu	gcg Ala 325	1075
gaa Glu	cag Gln	gtt Val	gtc Val	gtc Val 330	gat Asp	acg Thr	caa Gln	tct Ser	ttg Leu 335	gcg Ala	caa Gln	tgg Trp	ctg Leu	cct Pro 340	gct Ala	1123
agg Arg	gct Ala	Gly	cag Gln 345	gcg Ala	ctt Leu	gct Ala	tta Leu	gcg A1a 350	ctg Leu	gct Ala	gga Gly	gtg Val	gct Ala 355	aaa Lys	cct Pro	1171
gct A1a	gct Ala	ggc Gly 360	gac Asp	acg Thr	tat Tyr	gcg Ala	cta Leu 365	gcg Ala	att Ile	gcg Ala	gat Asp	acc Thr 370	aag Lys	egc Arg	cat His	1219
gcg Ala	gtg Val 375	ttg Leu	Val	Asp	Val	Ala	Asp	Ile	Ser	gcg Ala	Glu	Asp	gaa Glu	aag Lys	gcg Ala	1267
ctg Leu 390	gcc Ala	acg Thr	tgg Trp	ttg Leu	gcg Ala 395	tcg Ser	gaa Glu	gat Asp	cca Pro	aag Lys 400	atg Met	ctg Leu	cac His	ggc Gly	gct A1a 405	1315
aag Lys	gcc A1a	gcc Ala	tat Tyr	cat His 410	atg Met	ctc Leu	gct Ala	ggg Gly	cgc Arg 415	ggt G1y	ttt Phe	gag Glu	ctg Leu	cac His 420	ggc G1y	1363
gtg Val	gtg Val	cat His	gac Asp 425	acg Thr	gcg A1a	atc Ile	gcg Ala	gca Ala 430	tac Tyr	ttg Leu	ctg Leu	cgt Arg	ccg Pro 435	ggc	caa G1n	1411
cgc Arg	acc Thr	tat Tyr 440	gag Glu	ctt Leu	gcc Ala	gac Asp	gtc Val 445	tac Tyr	cag G1n	cgg Arg	cat His	ctt Leu 450	caa Gln	cga Arg	cag Gln	1459
ttg Leu	tct Ser 455	aca Thr	aac Asn	gac Asp	aat Asn	ggc Gly 460	ggc Gly	cag Gln	ctc Leu	acg Thr	ctg Leu 465	ctc Leu	gac Asp	gca Ala	gct Ala	1507
gat	gac	caa	tcg	ctt	gtt	gat	gat	gtc	att	gca	atc	ctt	gag	ctg	tct	1555

										_						
Asp 470	Asp	Gln	Ser	Leu	Val 475	Asp	Asp	Val	Ile	Ala 480	Ile	Leu	Glu	Leu	Ser 485	
gaa Glu	gaa Glu	ttg Leu	acc Thr	aaa Lys 490	cag Gln	ctt Leu	cag Gln	gag Glu	att Ile 495	caa Gln	gct Ala	ttt Phe	gag Glu	ctt Leu 500	tac Tyr	1603
	gac Asp															1651
atc Ile	ggt Gly	atc Ile 520	gct Ala	gtt Val	gat Asp	gtt Val	gcc Ala 525	act Thr	ttg Leu	gaa Glu	gag Glu	cag Gln 530	ttg Leu	aag Lys	act Thr	1699
ttc Phe	att Ile 535	ggt Gly	cag Gln	gtt Val	gct Ala	cag Gln 540	gaa Glu	gag Glu	g a a Glu	gca Ala	gct Ala 545	cgc Arg	gag Glu	ctc Leu	gct Ala	1747
	gat Asp															1795
ctt Leu	ttt Phe	gag Glu	acg Thr	ttc Phe 570	gga Gly	atg Met	ccg Pro	aaa Lys	acc Thr 575	aag Lys	aaa Lys	acc Thr	aag Lys	acc Thr 580	ggc Gly	1843
tac Tyr	tct Ser	acg Thr	gct Ala 585	gcc Ala	gcg Ala	gaa Glu	att Ile	gaa Glu 590	gcc Ala	cta Leu	gcg Ala	atc Ile	aag Lys 595	aat Asn	ccg Pro	1891
cac His	cca Pro	ttc Phe 600	cta Leu	gat Asp	cac His	ctg Leu	ttg Leu 605	gca Ala	cac His	cgt Arg	cag Gln	tac Tyr 610	caa Gln	aag Lys	atg Met	1939
aag Lys	acc Thr 615	act Thr	ctg Leu	gaa Glu	ggt Gly	ctc Leu 620	atc Ile	cgt Arg	gag Glu	gtg Val	gct Ala 625	cct Pro	gat Asp	ggc Gly	cgt Arg	1987
att Ile 630	cac His	acc Thr	acc Thr	ttc Phe	aac Asn 635	cag Gln	acg Thr	gtg Val	gcg Ala	tct Ser 640	acg Thr	gga Gly	cgt Arg	ttg Leu	tca Ser 645	2035
tcc Ser	act Thr	gat Asp	ccc Pro	aac Asn 650	ctg Leu	caa Gln	aac Asn	att Ile	cct Pro 655	gtg Val	cgc Arg	act Thr	gag Glu	gct Ala 660	ggc Gly	2083
cga Arg	a a g Lys	att Ile	cgt Arg 665	tcg Ser	gga Gly	ttc Phe	gtc Val	gta Val 670	ggc Gly	gag Glu	ggg Gly	tat Tyr	gaa Glu 675	acc Thr	ttg Leu	2131
ctg Leu	act Thr	gcc Ala 680	gac Asp	tat Tyr	tcg Ser	cag Gln	att Ile 685	gaa Glu	atg Met	cgc Arg	gtg Val	atg Met 690	gct Ala	cac His	ctt Leu	2179
tcc Ser	cag Gln 695	gac Asp	cca Pro	ggc Gly	ttg Leu	att Ile 700	gag Glu	gcg Ala	tac Tyr	cgc Arg	gaa Glu 705	ggc Gly	g aa Glu	gac Asp	ctg Leu	2227
cac His 710	aat Asn	tac Tyr	gtg Val	ggt Gly	tcc Ser 715	aag Lys	gtg Val	ttt Phe	aat Asn	gtg Val 720	ccc Pro	atc Ile	gat Asp	ggc Gly	gtg Val 725	2275
acc	cct	gag	ctg	cgt	cgc	cag	gtc	aag	gcc	atg	tct	tac	ggt	ctg	gtg	2323

			0100							9					- `	J 1, 11 01,
Thr	Pro	Glu	Leu	Arg 730	Arg	Gln	Val	Lys	Ala 7 3 5	Met	Ser	Tyr	Gly	Leu 740	Val	
	ggc Gly															2371
	gaa Glu															2419
_	cag Gln 775	_														2467
	acg Thr															2515
	gat Asp															2563
	ccg Pro															2611
	gtg Val															2659
ctt Leu	cag Gln 855	gtg Val	cat His	gat Asp	gaa Glu	ttg Leu 860	gtc Val	gtg Val	gaa Glu	gta Val	gcg Ala 865	gcc Ala	ggt Gly	gag Glu	ttg Leu	2707
	caa Gln															2755
ctg Leu	tcc Ser															2803
	gca Ala			taag	gaggt	aa o	tgcc	tttt	c gt	cgac	gago	2				2845
<212)> 4 .> 90 ?> PF ?> Co	$^{\mathrm{T}}$	ebact	eriu	ım gl	lutan	nicun	a								
<400 Leu 1)> 4 Gly	Glu	Cys	Val 5	Ala	Asn	Phe	Ser	Thr 10	Arg	Leu	His	Ser	Gly 15	Gly	
Val	Thr	Glu	Lys 20	Thr	Asp	Gln	Thr	Leu 25	Met	Leu	Ile	Asp	Gly 30	His	Ser	

Met Ala Phe Arg Ala Phe Phe Ala Leu Pro Ala Glu Asn Phe Ser Thr

45

40

35

										70					
Ser	Gly 50	Gly	Gln	Ala	Thr	Asn 55	Ala	Val	Туг	Gly	Phe 60	Leu	Ser	Met	Leu
Ser 65	Thr	Leu	Leu	Lys	Asp 70	Glu	Gln	Pro	Thr	His 75	Val	Ala	Val	Ala	Phe 80
Asp	Val	Gly	Arg	Lys 85	Thr	Phe	Arg	Thr	Asp 90	Met	Phe	Pro	Ala	Tyr 95	Lys
Ala	Gln	Arg	Glu 100	Ala	Thr	Pro	Pro	Glu 105	Phe	Lys	Gly	Gln	Val 110	Glu	Ile
Leu	Lys	Glu 115	Val	Leu	Ser	Thr	Leu 120	Gly	Ile	Thr	Thr	Ile 125	Glu	Lys	Ile
Asp	Phe 130	Glu	Ala	Asp	Asp	Val 135	Ile	Ala	Thr	Leu	Ser 140	Val	Ala	Ala	Lys
Pro 145	Leu	Gly	Phe	Lys	Thr 150	Leu	Ile	Val	Thr	Gly 155	Asp	Arg	Asp	Ser	Phe 160
Gln	Leu	Val	Asn	Asp 165	Thr	Thr	Thr	Val	Leu 170	Tyr	Pro	Met	Lys	Gly 175	Val
Ser	Val	Leu	His 180	Arg	Phe	Thr	Pro	Glu 185	Ala	Val	Glu	Glu	Lys 190	Tyr	Gly
Leu	Thr	Pro 195	Arg	Gln'	Tyr	Pro	Glu 200	Phe	Ala	Ala	Leu	Arg 205	Gly	Asp	Pro
Ser	Asp 210	Asn	Leu	Pro	Asn	Ile 215	Pro	Gly	Val	Gly	Glu 220	Lys	Thr	Ala	Thr
Lys 225	Trp	Ile	Ala	Gln	Tyr 230	Glu	Thr	Leu	Asp	Asn 235	Leu	Leu	Asp	His	Ala 240
Asp	Glu	Ile	Lys	Gly 245	Lys	Val	Gly	Ala	Ser 250	Leu	Arg	Glu	Arg	Ile 255	Glu
Gln	Val	Arg	Met 260	Asn	Arg	Lys	Leu	Thr 265	Glu	Met	Val	Lys	Asp 270	Leu	Glu
Leu	Pro	Leu 275	Gly	Pro	Asp	Asp	Phe 280	Glu	Met	Lys	Pro	Val 285	Gln	Val	Ala
Glu	Val 290	Ala	Ala	Lys	Phe	Asp 295	Asp	Leu	Glu	Phe	Gly 300	Thr	Asn	Leu	Arg
Glu 305	Arg	Val	Leu	Ala	Val 310	Val	Lys	Ala	Glu	Gly 315	Ser	Ala	Ala	Pro	Val 320
Glu	Glu	Val	Glu	Ala 325	Glu	Gln	Val	Val	Val 330	Asp	Thr	Gln	Ser	Leu 335	Ala
Gln	Trp	Leu	Pro 340	Ala	Arg	Ala	Gly	Gln 345	Ala	Leu	Ala	Leu	Ala 350	Leu	Ala
Gly	Val	Ala 355	Lys	Pro	Ala	Ala	Gly 360	Asp	Thr	Tyr	Ala	Leu 365	Ala	Ile	Ala
qaA	Thr 370	Lys	Arg	His	Ala	Val 375	Leu	Val	Asp	Val	Ala 380	Asp	Ile	Ser	Ala
Glu	Asp	Glu	Lys	Ala	Leu	Ala	Thr	Trp	Leu	Ala	Ser	Glu	Asp	Pro	Lys

											•				
385					390					395					400
Met	Leu	His	Gly	Ala 405	Lys	Ala	Ala	Tyr	His 410		Leu	Ala	Gly	Arg 415	Gly
Phe	Glu	Leu	His 420	Gly	Val	Val	His	Asp 425	Thr	Ala	Ile	Ala	Ala 430	Tyr	Leu
Leu	Arg	Pro 435	Gly	Gln	Arg	Thr	Tyr 440	Glu	Leu	Ala	Asp	Val 445	Tyr	Gln	Arg
His	Leu 450	Gln	Arg	Gln	Leu	Ser 455	Thr	Asn	Asp	Asn	Gly 460	Gly	Gln	Leu	Thr
Leu 465	Leu	Asp	Ala	Ala	Asp 470	Asp	Gln	Ser	Leu	Val 475	Asp	Asp	Val	Ile	Ala 480
Ile	Leu	Glu	Leu	Ser 485	Glu	Glu	Leu	Thr	Lys 490	Gln	Leu	Gln	Glu	Ile 495	Gln
Ala	Phe	Glu	Leu 500	Tyr	His	Asp	Leu	Glu 505	Ile	Pro	Leu	Ser	Gly 510	Ile	Leu
Ala	Arg	Met 515	Glu	Ala	Ile	Gly	Ile 520	Ala	Val	Asp	Val	Ala 525	Thr	Leu	Glu
Glu	Gln 530	Leu	Lys	Thr	Phe	Ile 535	Gly	Gln	Val	Ala	Gln 540	Glu	Glu	Glu	Ala
Ala 545	Arg	Glu	Leu	Ala	Glu 550	qzA	Pro	Thr	Leu	Asn 555	Leu	Ser	Ser	Pro	Lys 560
Gln	Leu	Gln	Val	Val 565	Leu	Phe	Glu	Thr	Phe 570	Gly	Met	Pro	Lys	Thr 575	Lys
Lys	Thr	Lys	Thr 580	Gly	Tyr	Ser	Thr	Ala 585	Ala	Ala	Glu	Ile	Glu 590	Ala	Leu
Ala	Ile	Lys 595	Asn	Pro	His	Pro	Phe 600	Leu	Asp	His	Leu	Leu 605	Ala	His	Arg
Gln	Tyr 610	Gln	Lys	Met	Lys	Thr 615	Thr	Leu	Glu	Gly	Leu 620	Ile	Arg	Glu	Val
Ala 625	Pro	Asp	Gly	Arg	Ile 630	His	Thr	Thr	Phe	Asn 635	Gln	Thr	Val	Ala	Ser 640
Thr	Gly	Arg	Leu	Ser 645	Ser	Thr	Asp	Pro	Asn 650	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro 655	Val
Arg	Thr	Glu	Ala 660	Gly	Arg	Lys	Ile	Arg 665	Ser	Gly	Phe	Val	Val 670	Gly	Glu
Gly	Tyr	Glu 675	Thr	Leu	Leu	Thr	Ala 680	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile 685	Glu	Met	Arg
Val	Met 690	Ala	His	Leu	Ser	Gln 695	Asp	Pro	Gly	Leu	Ile 700	Glu	Ala	Tyr	Arg
Glu 705	Gly	Glu	Asp	Leu	His 710	Asn	Tyr	Val	Gly	Ser 715	Lys	Val	Phe	Asn	Val 720
Pro	Ile	Asp	Gly	Val 725	Thr	Pro	Glu	Leu	Arg 730	Arg	Gln	Val	Lys	Ala 735	Met

Ser Tyr Gly Leu Val Tyr Gly Leu Ser Ala Phe Gly Leu Ser Gln Gln 745 Leu Ser Ile Pro Ala Gly Glu Ala Lys Gln Ile Met Glu Ser Tyr Phe Glu Arg Phe Gly Gly Val Gln Arg Tyr Leu Arg Glu Ile Val Glu Glu Ala Arg Lys Ala Gly Tyr Thr Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Leu Pro Glu Leu Thr Ser Asp Asn Arg Val Ala Arg Glu Asn Ala Glu 805 810 Arg Ala Ala Leu Asn Ala Pro Ile Gln Gly Thr Ala Ala Asp Ile Ile 825 Lys Val Ala Met Ile Arg Val Asp Arg Ser Leu Lys Glu Ala Ala Val 840 835 Lys Ser Arg Val Leu Leu Gln Val His Asp Glu Leu Val Val Glu Val 855 Ala Ala Gly Glu Leu Glu Gln Val Arg Glu Ile Leu Glu Arg Glu Met 865 Asp Asn Ala Ile Lys Leu Ser Val Pro Leu Glu Val Ser Ala Gly Asp 890 Gly Val Asn Trp Asp Ala Ala Ala His 900 <210> 5 <211> 1621 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(1591) <223> RXA00209 <400> 5 acaagaccct cgatgctgcg gctgcgttgg accaagcgcc cgctgtcgag gatggacgtt 60 ttatggttcc gcagattctg ggtgagggcg actaataatt atg acc aac aag tac Met Thr Asn Lys Tyr ctg gtt gaa ggc tct gaa aac gag ctg acc aca aag acc gca gca gag Leu Val Glu Gly Ser Glu Asn Glu Leu Thr Thr Lys Thr Ala Ala Glu 10 211 ctg gca ggt ctt att cat tcc cgc gag gta act tcc cgc gag gtt act Leu Ala Gly Leu Ile His Ser Arg Glu Val Thr Ser Arg Glu Val Thr 25 259 caa gcg cac cta gat cgc att gct gcg gtt gac ggc gat att cat gca Gln Ala His Leu Asp Arg Ile Ala Ala Val Asp Gly Asp Ile His Ala 40 50 ttt ctc cac gtt ggc cag gag gcc ctg aac gcg gcg gat gac gtc

		0-70								1.5	•					, _, ,,
Ph	e L eu 55	His	Val	Gly	Gln	Glu 60	Glu	Ala	Leu	Asn	Ala 65	Ala	Asp	Asp	Val	
	t aag p Lys 0															355
	g ccg l Pro															403
	g gcg r Ala															451
	t gtg r Val															499
	e aac r Asn 135															547
	ggc Gly															595
	ggt Gly															643
	g att a Ile															691
	aac Asn															739
	ctg Leu 215	Ile	Ala		Ala	Ser	Ser	Leu	Asp	${\tt Gln}$	${\tt Gly}$	Gly				787
	act Thr															835
	gct Ala															883
	g gct n Ala															931
	gtg Val															979
	g gca 1 Ala 295															1027
ato	gtc	gag	gtt	gat	tgc	cct	cac	ttt	gat	gac	gct	ctt	ggc	gcg	tac	1075

	WU	03/04	10190							14					PC	L/EPU2/
Ile 310	Val	Glu	Val	Asp	Cys 315	Pro	His	Phe	Asp	Asp 320	Ala	Leu	Gly	Ala	Tyr 325	
	ctg Leu															1123
	atg Met															1171
	gag Glu															1219
	cgc Arg 375															1267
gac Asp 390	gcg Ala	tac Tyr	tac Tyr	ctg Leu	cag Gln 395	gct Ala	cag Gln	cgc Arg	gtt Val	cgt Arg 400	acc Thr	ctc Leu	att Ile	gca Ala	cag Gln 405	1315
gac Asp	ttc Phe	gcc Ala	aag Lys	gct Ala 410	tac Tyr	gag Glu	cag Gln	gtc Val	gac Asp 415	atc Ile	ttg Leu	gtg Val	tcc Ser	cca Pro 420	acc Thr	1363
act Thr	cca Pro	acc Thr	acc Thr 425	gcg Ala	ttc Phe	aag Lys	ctg Leu	ggg Gly 430	gag Glu	aag Lys	gtc Val	acc Thr	gat Asp 435	ccg Pro	ctg Leu	1411
gag Glu	atg Met	tac Tyr 440	aac Asn	ttc Phe	gac Asp	ttg Leu	tgc Cys 445	acc Thr	ctg Leu	cca Pro	ctg Leu	aac Asn 450	ctg Leu	gct Ala	ggt Gly	1459
ctc Leu	gcg Ala 455	ggc Gly	atg Met	tcc Ser	ctg Leu	cct Pro 460	tcc Ser	ggc Gly	ttg Leu	gca Ala	tca Ser 465	gat Asp	act Thr	ggt Gly	ctg Leu	1507
cct Pro 470	gtt Val	ggt Gly	ttg Leu	cag Gln	ctg Leu 475	atg Met	gct Ala	cct Pro	gct Ala	ttc Phe 480	cag Gln	gac Asp	gat Asp	cgt Arg	ctc Leu 485	1555
	cgc Arg											tago	gttct	aa		1601
acco	etttt	ta a	gaaa	attgg	gc											1621
<210)> 6															

<210> 6

<211> 497

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 6

Met Thr Asn Lys Tyr Leu Val Glu Gly Ser Glu Asn Glu Leu Thr Thr 1 5 10 15

Lys Thr Ala Ala Glu Leu Ala Gly Leu Ile His Ser Arg Glu Val Thr 20 25 30

Ser Arg Glu Val Thr Gln Ala His Leu Asp Arg Ile Ala Ala Val Asp

45 35 40 Gly Asp Ile His Ala Phe Leu His Val Gly Gln Glu Glu Ala Leu Asn 55 Ala Ala Asp Asp Val Asp Lys Arg Leu Asp Ala Gly Glu Ala Pro Ala Ser Ala Leu Ala Gly Val Pro Leu Ala Leu Lys Asp Val Phe Thr Thr Thr Asp Ala Pro Thr Thr Ala Ala Ser Lys Met Leu Glu Gly Tyr Met 105 Ser Pro Tyr Asp Ala Thr Val Thr Arg Lys Ile Arg Glu Ala Gly Ile 120 115 Pro Ile Leu Gly Lys Thr Asn Met Asp Glu Phe Ala Met Gly Ser Ser 135 Thr Glu Asn Ser Ala Tyr Gly Pro Thr His Asn Pro Trp Asp Leu Glu 145 Arg Thr Ala Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Ala Ala Leu Ala Ala Gly Gln Ala Pro Leu Ala Ile Gly Thr Asp Thr Gly Gly Ser Ile Arg Gln Pro Ala Ala Leu Thr Asn Thr Val Gly Val Lys Pro Thr Tyr Gly Thr Val Ser Arg Tyr Gly Leu Ile Ala Cys Ala Ser Ser Leu Asp Gln Gly Gly Pro Thr Ala Arg Thr Val Leu Asp Thr Ala Leu Leu His Glu 230 235 Val Ile Ala Gly His Asp Ala Phe Asp Ala Thr Ser Val Asn Arg Pro Val Ala Pro Val Val Gln Ala Ala Arg Glu Gly Ala Asn Gly Asp Leu 265 Lys Gly Val Lys Val Gly Val Val Lys Gln Phe Asp Arg Asp Gly Tyr Gln Pro Gly Val Leu Glu Ala Phe His Ala Ser Val Glu Gln Met Arg 295 Ser Gln Gly Ala Glu Ile Val Glu Val Asp Cys Pro His Phe Asp Asp 305 Ala Leu Gly Ala Tyr Tyr Leu Ile Leu Pro Cys Glu Val Ser Ser Asn Leu Ala Arg Phe Asp Gly Met Arg Tyr Gly Leu Arg Ala Gly Asp Asp 345 Gly Thr Arg Ser Ala Asp Glu Val Met Ala Tyr Thr Arg Ala Gln Gly 360

Phe Gly Pro Glu Val Lys Arg Arg Ile Ile Leu Gly Thr Tyr Ala Leu

375

Ser Val Gly Tyr Tyr Asp Ala Tyr Tyr Leu Gln Ala Gln Arg Val Arg 385 390 Thr Leu Ile Ala Gln Asp Phe Ala Lys Ala Tyr Glu Gln Val Asp Ile Leu Val Ser Pro Thr Thr Pro Thr Thr Ala Phe Lys Leu Gly Glu Lys 420 Val Thr Asp Pro Leu Glu Met Tyr Asn Phe Asp Leu Cys Thr Leu Pro 440 Leu Asn Leu Ala Gly Leu Ala Gly Met Ser Leu Pro Ser Gly Leu Ala 455 Ser Asp Thr Gly Leu Pro Val Gly Leu Gln Leu Met Ala Pro Ala Phe 475 Gln Asp Asp Arg Leu Tyr Arg Val Gly Ala Ala Phe Glu Ala Gly Arg Lys <210> 7 <211> 793 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(763) <223> RXA00211 <400> 7 tgagccaaaa tcaataaggt gtttttcagc ctgaggtaaa aatacggtgg tactgtcgaa 60 accaatcatc ccctagtttt gaaaagaagg aagcgagcca atg tca ttc ctg atc 115 Met Ser Phe Leu Ile 163 ege gte etq ttg tee gae ace eea gge age ete geg tta ete get gaa Arg Val Leu Leu Ser Asp Thr Pro Gly Ser Leu Ala Leu Leu Ala Glu 10 15 gcc ctt ggg att gta gag gcc aat att caa tcc gtg gac gtg gta gaa 211 Ala Leu Gly Ile Val Glu Ala Asn Ile Gln Ser Val Asp Val Val Glu 30 25 259 cgc ttc ccc aat ggc acg gtc atg gac gat ctg gtg atc tcc atc cct Arg Phe Pro Asn Gly Thr Val Met Asp Asp Leu Val Ile Ser Ile Pro 40 45 50 cgc gat gtc atg gca gac acc atc acc gca gct gaa gaa gtc gac 307 Arg Asp Val Met Ala Asp Thr Ile Ile Thr Ala Ala Glu Glu Val Asp 55 60 ggc gtg gag att gat tcc atc cgc cca ttc tcc ggg act gtt gac cgc 355 Gly Val Glu Ile Asp Ser Ile Arg Pro Phe Ser Gly Thr Val Asp Arg 70 75 cgc gga cag atc caa atg ctg gct gct gtt gct cac caa cgc cgc gat

WO 03/040180 PCT/EP02/12138

										17						/ LEI V 2/
Ar	g Gly	Gln	Ile	Gln 90	Met	Leu	Ala	Ala	Val 95	Ala	His	Gln	Arg	Arg 100	Asp	
	c acc e Thr															451
	c tct r Ser				_	_										499
	c gct e Ala 135							-								547
	c atc n Ile 0	_			_	_	_	_			_	-		_	_	595
	g att p Ile															643
	g atc o Ile															691
	t gat o Asp															739
	t atc = Ile 215							taat	ctga	agc t	gttt	aaaa	a at	gccc	ccaag	793
<2: <2:	10> 8 11> 2: 12> P: 13> C	RT														
		oryne	ebact	ceriu	ım gl	utan	nicum	Ω								
Me	00> 8 t Ser 1								Ser 10	Asp	Thr	Pro	Gly	Ser 15	Leu	
Mei	t Ser	Phe	Leu	Ile 5	Arg	Val	Leu	Leu	10					15		
Met Ala	t Ser 1	Phe Leu	Leu Ala 20	Ile 5 Glu	Arg Ala	Val Leu	Leu Gly	Leu Ile 25	10 Val	Glu	Ala	Asn	Ile 30	15 Gln	Ser	
Met Ala Val	t Ser 1 a Leu	Phe Leu Val 35	Leu Ala 20 Val	Ile 5 Glu Glu	Arg Ala Arg	Val Leu Phe	Leu Gly Pro 40	Leu Ile 25 Asn	10 Val Gly	Glu Thr	Ala Val	Asn Met 45	Ile 30 Asp	15 Gln Asp	Ser Leu	
Met Ala Vai Vai	L Ser Leu L Asp L Ile 50 L Glu	Phe Leu Val 35 Ser	Leu Ala 20 Val Ile	Ile 5 Glu Glu Pro	Arg Ala Arg Arg	Val Leu Phe Asp 55	Leu Gly Pro 40 Val	Leu Ile 25 Asn Met	10 Val Gly Ala	Glu Thr Asp	Ala Val Thr	Asn Met 45 Ile	Ile 30 Asp Ile	15 Gln Asp Thr	Ser Leu Ala	
Med Ala Val Val Ala 65	L Ser Leu L Asp L Ile 50 L Glu	Phe Leu Val 35 Ser Glu	Leu Ala 20 Val Ile Val	Ile 5 Glu Glu Pro Asp	Arg Ala Arg Arg Gly 70	Val Leu Phe Asp 55 Val	Leu Gly Pro 40 Val Glu	Leu Ile 25 Asn Met	10 Val Gly Ala Asp	Glu Thr Asp Ser 75	Ala Val Thr 60 Ile	Asn Met 45 Ile Arg	Ile 30 Asp Ile Pro	15 Gln Asp Thr	Ser Leu Ala Ser 80	

Ile Pro Arg Thr Met Thr Ser Gly Trp Ala Leu Val Ile Asp Leu Lys 120 Gly Pro Ile Thr Arg Ile Ala Gly Ser Leu Ala Ala Pro Glu Asp Asp Gly Thr Val Pro Glu Asn Ile Val Leu Lys Glu Ala Arg Met Leu Asn 150 155 Pro Glu Asn Asp Pro Trp Ile Pro Glu Ser Trp Thr Leu Leu Asp Ser 165 170 Ser Leu Ala Ile Ala Pro Ile Gly Lys His Gly Leu Ala Leu Ile Ile 180 185 Gly Arg Pro Gly Gly Pro Asp Phe Leu Ala Ser Glu Val Glu His Leu 200 Gly Gln Val Gly Asp Ile Ile Gly Ala Met Leu Gln Lys <210> 9 <211> 1543 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(1513) <223> RXA00314 <400> 9 acctgtaaac acttacggtt tgggcgaaat tgaagcggga gccaacctgc tcaacgtcgc 60 aaagaaagaa gcggtgccag caacaccata agttgaaacc ttg agt gtt cgc aca Leu Ser Val Arg Thr cag gtt aga cta ggg gac gtg act cta cgc atc ttt gac acc ggt acc 163 Gln Val Arg Leu Gly Asp Val Thr Leu Arg Ile Phe Asp Thr Gly Thr 10 15 cgt acg ctt cga gat ttt aaa cct gtt caa cca ggt cat gcc tcg gtg 211 Arg Thr Leu Arg Asp Phe Lys Pro Val Gln Pro Gly His Ala Ser Val 25 30 tac ctg tgt ggt gcc acc ccg caa tct tca ccc cac att gga cat gtt 259 Tyr Leu Cys Gly Ala Thr Pro Gln Ser Ser Pro His Ile Gly His Val 40 45 cgt tca gca gta gcg ttt gat att ttg cgc cgc tgg ctc atg gct aag 307 Arg Ser Ala Val Ala Phe Asp Ile Leu Arg Arg Trp Leu Met Ala Lys 60 55 gga ctt gat gtg gca ttt gtt cgc aat gtc act gat atc gat gac aag 355 Gly Leu Asp Val Ala Phe Val Arg Asn Val Thr Asp Ile Asp Asp Lys 70 75 80 att ctc acc aag gca tct gaa aat ggt cgc cct tgg tgg gaa tgg gtg 403 Ile Leu Thr Lys Ala Ser Glu Asn Gly Arg Pro Trp Glu Trp Val 90 95 100 tcc acc tat gaa cgt gaa ttc acc tgg acg tac aac acg ttg ggt gtg 451 WO 03/040180 PCT/EP02/12138

										10						
Ser	Thr	Tyr	Glu 105	Arg	Glu	Phe	Thr	Trp 110	Thr	Tyr	Asn	Thr	Leu 115	Gly	Val	
	cct Pro															499
	aag Lys 135															5 47
	ggc Gly															5 95
	gac Asp															643
	gag Glu															691
tgg Trp	aag Lys	gct Ala 200	gcc Ala	aaa Lys	ccg Pro	ggt Gly	gag Glu 205	ccg Pro	tca Ser	tgg Trp	cca Pro	acc Thr 210	cct Pro	tgg Trp	gga Gly	739
	ggc Gly 215															787
	ttg Leu															835
	cca Pro															883
	ttt Phe						His									931
	aaa Lys															979
	aag Lys 295															1027
	tac Tyr															1075
	gtg Val															1123
gtt Val	gag Glu	gta Val	ggc Gly 345	gag Glu	tgg Trp	acg Thr	cca Pro	ggt Gly 350	ttt Phe	gaa Glu	gtt Val	gcg Ala	atg Met 355	gat Asp	gag Glu	1171
gat	att	gca	gtt	cct	aag	gct	ttg	gct	gaa	atc	cat	aac	gct	gtc	cgc	1219

		00,00	0100							20						,
Asp	Ile	Ala 360	Val	Pro	Lys	Ala	Leu 365	Ala	Glu	Ile	His	Asn 370	Ala	Val	Arg	
													gcg Ala			1267
													ttc Phe			1315
													gat Asp			1363
													act Thr 435			1411
													cgt Arg			1459
gat Asp	gct Ala 455	ggt Gly	att Ile	gag Glu	gtt Val	gtg Val 460	gat Asp	acc Thr	gca Ala	gat Asp	ggc Gly 465	gct Ala	aca Thr	tgg Trp	aaa Lys	1507
ttg Leu 470	_	taat	taca	aga o	cactt	ttaa	ag ga	ıgata	attt	:						1543
<211 <212)> 10 .> 47 !> PF i> Co	/1 RT	ebact	eri	ım gl	Lutar	nicur	n								
)> 1(Ser		Arg	Thr 5	Gln	Val	Arg	Leu	Gly 10	Asp	Val	Thr	Leu	Arg 15	Ile	
Phe	Asp	Thr	Gly 20	Thr	Arg	Thr	Leu	Arg 25	Asp	Phe	Lys	Pro	Val 30	Gln	Pro	
Gly	His	Ala 35	Ser	Val	Tyr	Leu	Cys 40	Gly	Ala	Thr	Pro	Gln 45	Ser	Ser	Pro	
His	Ile 50	Gly	His	Va1	Arg	Ser 55	Ala	Val	Ala	Phe	Asp 60	Ile	Leu	Arg	Arg	
Trp 65	Leu	Met	Ala	Lys	Gly 70	Leu	Asp	Val	Ala	Phe 75	Val	Arg	Asn	Val	Thr 80	
Asp	Ile	Asp	Asp	Lys 85	Ile	Leu	Thr	Lys	Ala 90	Ser	Glu	Asn	Gly	Arg 95	Pro	
Trp	Trp	Glu	Trp 100	Val	Ser	Thr	Tyr	Glu 105	Arg	Glu	Phe	Thr	Trp 110	Thr	Tyr	
Asn	Thr	Leu 115	Gly	Val	Leu	Pro	Pro 120	Ser	Thr	Glu	Pro	Arg 125	Ala	Thr	Gly	
												~-7	Asp	_		

135 140 130 Phe Ala Tyr Ala Val Asp Gly Ser Val Tyr Phe Asp Val Ala Ala Trp 145 150 155 Ser Lys Ala Glu Gly Ser Asp Tyr Gly Ser Leu Ser Gly Asn Arg Val 170 Glu Asp Met Glu Gln Gly Glu Pro Asp Asn Phe Gly Lys Arg Gly Pro 180 185 Gln Asp Phe Ala Leu Trp Lys Ala Ala Lys Pro Gly Glu Pro Ser Trp Pro Thr Pro Trp Gly Asp Gly Arg Pro Gly Trp His Leu Glu Cys Ser 215 210 Ala Met Ala Thr Tyr Tyr Leu Gly Glu Gln Phe Asp Ile His Cys Gly 235 Gly Leu Asp Leu Gln Phe Pro His His Glu Asn Glu Ile Ala Gln Ala 245 His Ala Ala Gly Asp Lys Phe Ala Asn Tyr Trp Met His Asn His Trp 265 Val Thr Met Ala Gly Glu Lys Met Ser Lys Ser Leu Gly Asn Val Leu Ala Val Pro Glu Met Leu Lys Gln Val Arg Pro Val Glu Leu Arg Tyr 295 Tyr Leu Gly Ser Ala His Tyr Arg Ser Val Leu Glu Tyr Ser Glu Ser 305 Ala Leu Ser Glu Ala Ala Val Gly Tyr Arg Arg Ile Glu Ser Phe Leu 330 Glu Arg Val Gly Asp Val Glu Val Gly Glu Trp Thr Pro Gly Phe Glu 340 345 Val Ala Met Asp Glu Asp Ile Ala Val Pro Lys Ala Leu Ala Glu Ile 360 His Asn Ala Val Arg Glu Gly Asn Ala Leu Asp Lys Gly Asp Arg 370 Glu Ala Ala Glu Lys Leu Ala Ser Ser Val Arg Ala Met Thr Gly Val 390 395 Leu Gly Phe Asp Pro Val Glu Trp Gly Ser Asp Ala Gly Ala Asp Gly Lys Ala Asp Lys Ala Leu Asp Val Leu Ile Ser Ser Glu Leu Glu Arg 425 Arg Ala Thr Ala Arg Ala Glu Lys Asn Trp Ala Val Ala Asp Glu Val 435 Arg Asp Arg Leu Ala Asp Ala Gly Ile Glu Val Val Asp Thr Ala Asp 460

Gly Ala Thr Trp Lys Leu Gln 465 470

<210> 11 <211> 1009 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(979) <223> RXA00458 <400> 11 cacccctgaa aacctcctca actatcccgg agtgatcatc tccaccgttc aggagaaccc 60 atccgaaaca tggcggcaag tgaacatcta atctagaaac atg gca gga cga tac Met Ala Gly Arg Tyr 163 gca cca tca cca agc ggc gac ctt cac ttt ggc aac ctc cgc aca gca Ala Pro Ser Pro Ser Gly Asp Leu His Phe Gly Asn Leu Arg Thr Ala 211 ctg ctg gcc tgg ctg ttc gcg cgc tcc gaa gga aaa aaa ttc ctc atg Leu Leu Ala Trp Leu Phe Ala Arg Ser Glu Gly Lys Lys Phe Leu Met 259 cgg gtc gaa gac atc gat gaa caa cgc tca tcc aag gaa tcc gcc gaa Arg Val Glu Asp Ile Asp Glu Gln Arg Ser Ser Lys Glu Ser Ala Glu age caa ctc gca gac cta tcc gcc ctg ggt ctc gat tgg gat ggc gac 307 Ser Gln Leu Ala Asp Leu Ser Ala Leu Gly Leu Asp Trp Asp Gly Asp qtc ctc tac caa tcc aca cqc tac qac gcc tac cgc gca gcc ctt gaa 355 Val Leu Tyr Gln Ser Thr Arg Tyr Asp Ala Tyr Arg Ala Ala Leu Glu 75 aaa cta gac acc tac gaa tgt tat tgc tcg cgc cgg gac atc caa gaa 403 Lys Leu Asp Thr Tyr Glu Cys Tyr Cys Ser Arg Arg Asp Ile Gln Glu 451 gcc tcg cgg gca ccc cat gtg gct ccg gga gtg tat ccg gga acg tgt Ala Ser Arg Ala Pro His Val Ala Pro Gly Val Tyr Pro Gly Thr Cys 110 agg gga ttg aag gag gaa cgc gtc gaa aag cgt gca acc ttg gct 499 Arg Gly Leu Lys Glu Glu Glu Arg Val Glu Lys Arg Ala Thr Leu Ala 125 gcg caa aac cgg cac ccc gcc atc cgc ctg cgc gcg cag gta acc tcg 547 Ala Gln Asn Arg His Pro Ala Ile Arg Leu Arg Ala Gln Val Thr Ser 140 ttt gat ttt cac gac cga ctt cgc ggc cca caa act ggc ccc gta gac 595 Phe Asp Phe His Asp Arg Leu Arg Gly Pro Gln Thr Gly Pro Val Asp 155 160 gat ttc att ctg ctc cgc ggc ggg cag gaa ccc gga tgg gca tac aac 643 Asp Phe Ile Leu Leu Arg Gly Gly Gln Glu Pro Gly Trp Ala Tyr Asn 175 tta gct gtc gtc gac gat gcc tac caa ggc gtt gac cag gta gtc 691 Leu Ala Val Val Val Asp Asp Ala Tyr Gln Gly Val Asp Gln Val Val

	WO	03/04	0180							23					PCT	/EP02/12
			185					190					195			
_	ggc	_	_			_		_		_		_			_	739
_	ctg Leu 215	_						_							_	787
	aac Asn															835
	aaa Lys		_													883
	gca Ala															931
	gaa Glu															979
tgag	ggcto	cag a	aggga	agggg	gt ca	attco	catct	5								1009
<213 <212	0> 12 1> 29 2> PE 3> Co	29 T	ebact	eri	um gl	Lutar	nicur	n								
	0> 12 Ala		Arg	Tyr 5	Ala	Pro	Ser	Pro	Ser 10	Gly	Asp	Leu	His	Phe 15	Gly	
Asn	Leu	Arg	Thr 20	Ala	Leu	Leu	Ala	Trp 25	Leu	Phe	Ala	Arg	Ser 30	Glu	Gly	
Lys	Lys	Phe 35	Leu	Met	Arg	Val	Glu 40	Asp	Ile	Asp	Glu	Gln 45	Arg	Ser	Ser	
Lys	Glu 50	Ser	Ala	Glu	Ser	Gln 55	Leu	Ala	Asp	Leu	Ser 60	Ala	Leu	Gly	Leu	
Asp 65	Trp	Asp	Gly	Asp	Val 70	Leu	Tyr	Gln	Ser	Thr 75	Arg	Tyr	Asp	Ala	Tyr 80	,
Arg	Ala	Ala	Leu	Glu 85	Lys	Leu	Asp	Thr	Tyr 90	Gl u	Cys	Tyr	Cys	Ser 95	Arg	•
Arg	Asp	Ile	Gln 100	Glu	Ala	Ser	Arg	Ala 105	Pro	His	Val	Ala	Pro 110	Glу	Val	
Tyr	Pro	Gly 115	Thr	Cys	Arg	Gly	Leu 120	Lys	Glu	Glu	Glu	Arg 125	Val	Glu	Lys	
Arg	Ala 130	Thr	Leu	Ala	Ala	Gln 135	Asn	Arg	His	Pro	Ala 140	Ile	Arg	Leu	Arg	

Ala Gln Val Thr Ser Phe Asp Phe His Asp Arg Leu Arg Gly Pro Gln

145					150					155					160	
Thr	Gly	Pro	Val	Asp 165	Asp	Phe	Ile	Leu	Leu 170	Arg	Gly	Gly	Gln	Glu 175	Pro	
G1y	Trp	Ala	Tyr 180	Asn	Leu	Ala	Val	Val 185	Val	Asp	Asp	Ala	Tyr 190	Gln	Gly	
Val	Asp	Gln 195	Val	Val	Arg	Gly	Asp 200	Asp	Leu	Leu	Asp	Ser 205	Ala	Ala	Arg	
Gln	Ala 210	Tyr	Leu	Gly	Ser	Leu 215	Leu	Gly	Thr	Pro	Ala 220	Pro	Glu	Tyr	Ile	
His 225	Val	Pro	Leu	Val	Leu 230	Asn	Ala	His	Gly	Gln 235	Arg	Leu	Ala	Lys	Arg 240	
Asp	Gly	Ala	Val	Thr 245	Leu	Lys	Glu	Met	Leu 250	Ile	Asp	Ala	Pro	Leu 255	His	
Thr	Ile	Phe	Ser 260	Arg	Leu	Ala	Ser	Ser 265	Leu	Gly	Tyr	Glu	Gly 270	Val	Asn	
Ser	Ala	Pro 275	Gln	Leu	Leu	Glu	Ile 280	Phe	Asp	Pro	Thr	Thr 285	Leu	Ser	Arg	
Glu	Pro 290	Phe	Ile	Tyr												
<211 <211 <213 <221 <221 <221)> 13 l> 17 2> DN 3> Cd l> Cl 1> Cl 2> (1	744 VA oryne OS LO1)	(1		um gl	Lutan	nicun	n								
)> 13 yttac		eggea	accga	ıg at	caaç	gtteg	g gtg	ggcgt	gga	gtad	cttgo	ett o	ctcto	cegete	60
gtga	acato	ect o	egcaa	atcgt	c ga	agaag	gtagg	g gga	ataag	gttc		gca Ala				115
	ttt Phe															163
	gca Ala															211
gtt Val	ctt Leu	gat Asp 40	aag Lys	gca Ala	ttc Phe	ggc Gly	gga Gly 45	cct Pro	ctg Leu	gtc Val	acc Thr	aac Asn 50	gac Asp	ggt Gly	gtc Val	259
	att Ile 55															307
aca	cao	cta	ata	aag	taa	gtt	gct	gtt	aag	acc	aac	gac	atc	gct	ggt	355

										~-						
Ala 70	Gln	Leu	Val	Lys	Ser 75	Val	Ala	Val	Lys	Thr 80	Asn	Asp	Ile	Ala	Gly 85	
				act Thr 90												403
				gtt Val												451
				gct Ala												499
				tct Ser												547
				gaa Glu												595
aag Lys	gtt Val	ggc Gly	aag Lys	gac Asp 170	ggt Gly	gtc Val	gtc Val	acc Thr	gtt Val 175	gag Glu	gag Glu	tcc Ser	cag Gln	tcc Ser 180	atc Ile	643
				gag Glu												691
				ttc Phe												739
				gtg Val												787
				ttg Leu												835
				gaa Glu 250												883
				cgc Arg												931
				cga Arg												979
				gtc Val												1027
				gtt Val												1075
gac	gaa	acc	atc	atc	gtt	gat	ggt	gca	ggt	tcc	gca	gaa	gac	gtt	gaa	1123

Asp Glu Thr Ile Ile Val Asp Gly Ala Gly Ser Ala Glu Asp Val Glu gca cgt cgc ggc cag atc cgt cgc gaa atc gcc aac acc gat tcc acc Ala Arg Arg Gly Gln Ile Arg Arg Glu Ile Ala Asn Thr Asp Ser Thr 345 355 350 tgg gat cgc gaa aag gca gaa gag cgt ttg gct aag ctc tcc ggt ggt 1219 Trp Asp Arg Glu Lys Ala Glu Glu Arg Leu Ala Lys Leu Ser Gly Gly 360 365 att gct gtc atc cgc gtt ggt gca gca act gaa acc gaa gtc aac gac 1267 Ile Ala Val Ile Arg Val Gly Ala Ala Thr Glu Thr Glu Val Asn Asp 375 380 cgc aag ctg cgt gtc gaa gat gcc atc aac gct gct cgc qca gca gca 1315 Arg Lys Leu Arg Val Glu Asp Ala Ile Asn Ala Ala Arg Ala Ala Ala 390 395 caa gaa ggc gtt atc gct ggt ggc ggt tcc gct ttg gtt cag atc gct 1363 Gln Glu Gly Val Ile Ala Gly Gly Gly Ser Ala Leu Val Gln Ile Ala 410 gag act ctg aag gct tac gcc gaa gag ttc gaa ggc gac cag aag gtc 1411 Glu Thr Leu Lys Ala Tyr Ala Glu Glu Phe Glu Gly Asp Gln Lys Val 425 ggc gtt cgc gca ctg gct act gct ttg ggc aag cca gcg tac tgg atc 1459 Gly Val Arg Ala Leu Ala Thr Ala Leu Gly Lys Pro Ala Tyr Trp Ile 440 ged ted aad gea ggt ett gad ggd tet gtt gtt gtt gea egd act get 1507 Ala Ser Asn Ala Gly Leu Asp Gly Ser Val Val Val Ala Arg Thr Ala 460 gct ctg cca aac ggc gag ggc ttc aac gct gca act ttg gaa tac gga Ala Leu Pro Asn Gly Glu Gly Phe Asn Ala Ala Thr Leu Glu Tyr Gly 475 480 aac ctg atc aac gac ggt gtc atc gac cca gtc aag gtc acc cat tcc 1603 Asn Leu Ile Asn Asp Gly Val Ile Asp Pro Val Lys Val Thr His Ser 495 gca gta gtg aat gca acc tct gtt gca cgc atg gtt ctg acc act gag 1651 Ala Val Val Asn Ala Thr Ser Val Ala Arg Met Val Leu Thr Thr Glu 505 510 get tet gtt gtt gag aag eet gea gaa gaa gea gee gat gea eat gea 1699 Ala Ser Val Val Glu Lys Pro Ala Glu Glu Ala Ala Asp Ala His Ala 525 gga cat cat cac cac taaagttctg tgaaaaacac cgtggggcag 1744 Gly His His His His 535

<210> 14 <211> 538 <212> PRT <213> Corynebacterium glutamicum

Met Ala Lys Leu Ile Ala Phe Asp Gln Asp Ala Arg Glu Gly Ile Leu Arg Gly Val Asp Ala Leu Ala Asn Ala Val Lys Val Thr Leu Gly Pro Arg Gly Arg Asn Val Val Leu Asp Lys Ala Phe Gly Gly Pro Leu Val Thr Asn Asp Gly Val Thr Ile Ala Arg Asp Ile Asp Leu Glu Asp Pro Phe Glu Asn Leu Gly Ala Gln Leu Val Lys Ser Val Ala Val Lys Thr 70 75 Asn Asp Ile Ala Gly Asp Gly Thr Thr Thr Ala Thr Leu Leu Ala Gln Ala Leu Ile Ala Glu Gly Leu Arg Asn Val Ala Ala Gly Ala Asn Pro 100 105 Met Glu Leu Asn Lys Gly Ile Ser Ala Ala Ala Glu Lys Thr Leu Glu 120 Glu Leu Lys Ala Arg Ala Thr Glu Val Ser Asp Thr Lys Glu Ile Ala 130 135 Asn Val Ala Thr Val Ser Ser Arg Asp Glu Val Val Gly Glu Ile Val 150 155 Ala Ala Met Glu Lys Val Gly Lys Asp Gly Val Val Thr Val Glu 170 175 Glu Ser Gln Ser Ile Glu Thr Ala Leu Glu Val Thr Glu Gly Ile Ser 185 Phe Asp Lys Gly Tyr Leu Ser Pro Tyr Phe Ile Asn Asp Asn Asp Thr 200 Gln Gln Ala Val Leu Asp Asn Pro Ala Val Leu Leu Val Arg Asn Lys 215 Ile Ser Ser Leu Pro Asp Phe Leu Pro Leu Clu Lys Val Val Glu Ser Asn Arg Pro Leu Leu Ile Ile Ala Glu Asp Val Glu Gly Glu Pro Leu Gln Thr Leu Val Val Asn Ser Ile Arg Lys Thr Ile Lys Val Val 260 . 265 Ala Val Lys Ser Pro Tyr Phe Gly Asp Arg Lys Ala Phe Met Asp 280 Asp Leu Ala Ile Val Thr Lys Ala Thr Val Val Asp Pro Glu Val Gly 290 295 Ile Asn Leu Asn Glu Ala Gly Glu Glu Val Phe Gly Thr Ala Arg Arg 310 315 Ile Thr Val Ser Lys Asp Glu Thr Ile Ile Val Asp Gly Ala Gly Ser

Ala Glu Asp Val Glu Ala Arg Arg Gly Gln Ile Arg Arg Glu Ile Ala

28 350 345 340 Asn Thr Asp Ser Thr Trp Asp Arg Glu Lys Ala Glu Glu Arg Leu Ala 355 360 365 Lys Leu Ser Gly Gly Ile Ala Val Ile Arg Val Gly Ala Ala Thr Glu Thr Glu Val Asn Asp Arg Lys Leu Arg Val Glu Asp Ala Ile Asn Ala 385 395 400 Ala Arg Ala Ala Gln Glu Gly Val Ile Ala Gly Gly Ser Ala Leu Val Gln Ile Ala Glu Thr Leu Lys Ala Tyr Ala Glu Glu Phe Glu Gly Asp Gln Lys Val Gly Val Arg Ala Leu Ala Thr Ala Leu Gly Lys Pro Ala Tyr Trp Ile Ala Ser Asn Ala Gly Leu Asp Gly Ser Val Val Val Ala Arg Thr Ala Ala Leu Pro Asn Gly Glu Gly Phe Asn Ala Ala Thr Leu Glu Tyr Gly Asn Leu Ile Asn Asp Gly Val Ile Asp Pro Val 485 Lys Val Thr His Ser Ala Val Val Asn Ala Thr Ser Val Ala Arg Met 505 Val Leu Thr Thr Glu Ala Ser Val Val Glu Lys Pro Ala Glu Glu Ala 520 Ala Asp Ala His Ala Gly His His His 530 535 <210> 15 <211> 652 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(622) <223> RXA00588 <400> 15 tcatacatct tggccccgga aaaccggggc caatcttatg gctcaagtcg ctagttagcc 60 gatgatccac ctctactgtt ccccaggagg gtaagtaatt atg gca agt gta gat 115 Met Ala Ser Val Asp 1 aag caa tac atc acc cca gaa acc aag gcc aag ctg gag gaa gag ctc Lys Gln Tyr Ile Thr Pro Glu Thr Lys Ala Lys Leu Glu Glu Glu Leu 10 15 aac gcc ctc atc gca cac cgc cct gca gtt gct gcg gaa atc aat gag

Asn Ala Leu Ile Ala His Arg Pro Ala Val Ala Ala Glu Ile Asn Glu 30

			0100							29					_	0 1, 11 0 1, 1
cgc Arg	cgt Arg	gaa Glu 40	gaa Glu	ggc Gly	gac Asp	ctc Leu	aag Lys 45	gaa Glu	aac Asn	gct Ala	ggc Gly	tat Tyr 50	gac Asp	gcc Ala	gct Ala	259
																307
																355
																403
																451
cca Pro	gat Asp	ctt Leu 120	gag Glu	acc Thr	tac Tyr	tct Ser	gag Glu 125	cag Gln	tcc Ser	cca Pro	ctc Leu	ggc Gly 130	gct Ala	gca Ala	att Ile	499
ctc Leu	gga Gly 135	gct Ala	cag Gln	gaa Glu	ggc Gly	gac Asp 140	acc Thr	cgt Arg	cag Gln	tac Tyr	acc Thr 145	gct Ala	cca Pro	aat Asn	ggt Gly	547
tcc Ser 150	gtt Val	atc Ile	tcc Ser	gta Val	act Thr 155	gtt Val	gtt Val	tct Ser	gca Ala	gaa Glu 160	cca Pro	tac Tyr	aac Asn	tca Ser	gca Ala 165	595
						_			taad	ccaag	gga t	ttaa	aagt	:c		642
ttca	ıaaat	ga														652
<211 <212	.> 17 ?> PF	74 RT	ebact	eriu	ım g]	Lutar	nicum	α								
			1701	7	Tara	C1 m	TT: ***	*1 ^	Thr	Dro	Clu	Πhr	Tare	7 l a	Tare	
Mec 1	Ala	ser	vai	ASD 5	пур	GIII	TÄT	116	10	110	GIU	7111	ny o	15	770	
			20					25					30			
Ala	Glu	Ile 35	Asn	Glu	Arg	Arg	Glu 40	Glu	Gly	Asp	Leu	Lys 45	Glu	Asn	Ala	
Gly	Tyr 50	Asp	Ala	Ala	Arg	Glu 55	Met	Gln	Asp	Gln	Glu 60	Glu	Ala	Arg	Ile	
Lys 65	Gln	Ile	Ser	Glu	Leu 70	Leu	Ala	Asn	Ser	Thr 75	Thr	Glu	Arg	Glu	Gly 80	
Ile	Ile	Glu	Gly	Val 85	Ala	Asn	Val	Gly	Ser 90	Val	Val	His	Val	Tyr 95	Tyr	
	cgt Arg cgt Arg ctg Ar	Arg Arg cgt gaa Arg Glu 555 ctg ctg Leu Ctg Leu Leu 70 gca aac Ala Asn gac aag Asp Lys cca gat Pro Asp ctc gga Leu Gly 1355 tcc gtt Ser Val 150 aaa gcc Lys Ala ttcaaaat <210> 16 <211> 17 <212> PR <213> Cc <400> 16 Met Ala Leu Glu Ala Glu Gly Tyr 50 Lys Gln 65	Arg Arg Glu 40 cgt gaa atg Arg Glu Met 555 ctg ctg gcc Leu Leu Ala 70 gca aac gtt Ala Asn Val gac aag gaa Asp Lys Glu cca gat ctt Pro Asp Leu 120 ctc gga gct Leu Gly Ala 135 tcc gtt atc Ser Val Ile 150 aaa gcc gcg Lys Ala Ala ttcaaaatga <210> 16 <211> 174 <212> PRT <213> Coryne <400> 16 Met Ala Ser 1 Leu Glu Glu Ala Glu Ile 35 Gly Tyr Asp 50 Lys Gln Ile 65 Gly Ile 65	Arg Arg Glu Glu cgt gaa atg cag Arg Glu Met Gln 555 ctg ctg gcc aac Leu Leu Ala Asn 70 gca aac gtt ggc Ala Asn Val Gly gac aag gaa acc Asp Lys Glu Thr 105 cca gat ctt gag Pro Asp Leu Glu 120 ctc gga gct cag Leu Gly Ala Gln 135 tcc gtt atc tcc Ser Val Ile Ser 150 aaa gcc gcg aca Lys Ala Ala Thr ttcaaaatga <210> 16 <211> 174 <212> PRT <213> Corynebact <400> 16 Met Ala Ser Val 1 Leu Glu Glu Glu 20 Ala Glu Ile Asn 35 Gly Tyr Asp Ala 50 Lys Gln Ile Ser 65	Arg Arg Glu Glu Gly cgt gaa atg gac Arg Ctg gcc aac tcc Leu Leu Ala Asn Ser 70 aac gtt ggc tcc Leu Gly Ser 90 gac aag gac tcc Asp Lys Glu Thr Phe 105 Ctc gag acc ttc Asp Leu Glu Thr Phe ctc gga gct cag gaa Leu Gly Ala Glu Glu ttc gga gct cag gaa ctc gtt atc tcc gta ser Val Ile Ser Val ttca gcg gcg aca ctc Lys Ala Ala Thr Leu clu 210 > 16 Yal Asp clu Ala <	Arg Arg Glu Glu Gly Asp cgt gaa atg cag gac cag Arg Glu Met Gln Asp Gln ctg ctg gcc aac tcc acc Leu Leu Ala Asn Ser Thr 75 gca aac gtt ggc tcc gtt Ala Asn Val Gly Ser Val gac aag gac tcc tcc tac trac trac trac trac trac Arg Int Tyr Tyr	Arg Arg Glu 40 Glu Gly Asp Leu cgt gaa atg cag gac Gln Glu Glu Gly Glu	Arg Arg Glu Glu Gly Asp Leu Lys 45 cgt gaa atg cag gac cag gaa gag gag cag gaa gag cag gaa gag cag gaa gag cac acc act gag cac acc act gag cac gag cac gag cac gag cac gag gag cac gag gac gac gag gac gac	Arg Arg Glu 40 Glu Glu Gly Asp Leu Lys Glu 45 Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ala 60 Glu Arg 75 Glu Ala 60 Glu Arg 75 Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Arg 75 Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Arg Arg Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Arg Arg Glu	Arg Arg Glu Glu Gly Asp Leu Lys Glu Asn cgt gaa atg cag gac cag gaa gag gcc cgc cgc cac cac act gag gcc gaa cgc gaa gac gaa cgc gaa gac gaa cgc gaa gac gaa gac gaa gaa gaa gaa ccg gaa gaa ccg gaa gaa ccg gaa ccg gaa gaa ccg gaa ccg gaa ccg gaa ccg cag cac cgt gaa acc cgt cag cac cgt cag cac cgt	cgc cgt gaa gaa gaa gac ctc law gaa gaa gac ctc law gaa gaa gac gat gaa gaa gaa gac ctc law Asn Asn Cag gaa gaa gcc ctc atc acc acc acc gaa gaa ggc gaa ggc dec acc acc acc gaa ggc gga ggc full Glu Glu Ang Glu Gl	Cog cogt Sana Arg Glu Glu Gly Asp Leu Lys Glu Asn Ala Gly 40 Glu Gly Gly Asp Leu Lys Glu Asn Ala Gly Asp Clu Lys Glu Asn Ala Gly Gly Asp Clu Lys Glu Asn Arg Ile Lys Size Size Size Size Size Size Size Size	cgc cgt gaa gaa ggc gac ctc aag gaa aac gct ggc tac cgt gaa atg cag gac cag gag cag cag cag gag cag cag gag cag cag gag cag cag cag gac gag ggc gad ggc gad ggc gad ggc gac gac cag gac cag gac cag gac cag cag cac cac gac cac gac cac cac cac	cgt gaa gaa ggc ctc aag gaa aac gct ggc tat gac cgt gaa atg cag gaa gag gag gag ctc ctc acc acc act gag ggc gaa ggc gaa ggc acc act gac ggc gaa ggc gaa ggc gaa ggc gaa ggc gaa ggc gaa ggc gac acc acc act gac gag ggc gaa ggc gac ggc gac gac ggc gac ggc gac ggc gac ggc gac gac ggc gac gac ggc gac gac ggc gac gac gac gac gac	cgc cgt gaa gaa ggc Arg Arg Arg Glu Glu Gly Gly Asp Leu Lys Glu Asn Ala Gly Tyr Asp Ala Solu Glu Gly Gly Asp Leu Lys Glu Asn Ala Gly Tyr Asp Ala Solu Asn Glu Met Gln Asp Glu Glu Glu Ala Arg Ile Lys Gln Ile Ser Solu Glu Met Gln Asp Glu Glu Glu Ala Arg Ile Lys Gln Ile Ser Solution Soluti	cgc cgt gaa gaa ggc gac ctc aag gaa aac gct ggc tat gac gcc gct Arg Arg Glu Glu Gly Asp Leu Lys Glu Asn Ala Gly Tyr Asp Ala Ala arg Glu Met Gln Asp Glu Glu Glu Glu Ala Arg Tie Lys Glu Tie Ser Glu Glu Met Gln Asp Glu Glu Glu Ala Arg Tie Lys Glu Tie Ser Glu Glu Glu Ala Arg Tie Lys Glu Tie Ser Glu Glu Glu Ala Arg Tie Lys Glu Tie Ser Glu Glu Glu Ala Arg Tie Lys Glu Fie Glu Gly Val 70 ctg ctg gcc aac tcc act gag cgc gac ggc gac ggc atc atc gaa ggt gtc en Leu Leu Ala Asn Ser Thr Thr Glu Arg Glu Gly Ile Ile Glu Gly Val 80 gca acc gtt ggc tcc gtt gtt cac gtc tac tac gac ggc gac gag acc Ala Asn Val Gly Ser Val Val His Val Tyr Tyr Asp Gly Asp Glu Asn 100 gca aac gaa gaa acc ttc cac tc act ggt acc gt ggc ggc gct tcc gaa acc Asp Lys Glu Thr Phe Leu Tie Gly Thr Arg Ala Gly Ala Ser Glu Asn 105 gca gat ctt gag acc tac tct ggg acc cac atc ggc gct gca atc Pro Asp Leu Glu Thr Tyr Ser Glu Gln Ser Pro Leu Gly Ala Ala Ile 120 ctc gga gct cag gaa ggc gac acc ctc gag acc gac acc ggc gcc gca atc ggt clu Gly Ala Gln Glu Gly Asp Thr Arg Gln Tyr Thr Ala Pro Asn Gly 135 gca acc gtt acc acc gct cca act ggt ccc cac act ggc gct ccc acc gtt acc acc gct cca act ggt clu Gly Ala Glu Fro Tyr Asn Ser Ala 155 tcc gtt atc tcc gta act gtt gtt tct gca gaa ccc tac acc gct cca act ggt clu Gly Ala Glu Fro Tyr Asn Ser Ala 155 160 aaa gcc gcg aca ctc gca gca gca acc ctc gcg gaa acc acc tac acc tac acc gca ya acc acc gcg gca acc acc gcg gca acc acc

Asp Gly Asp Glu Asn Asp Lys Glu Thr Phe Leu Ile Gly Thr Arg Ala 105 Gly Ala Ser Glu Asn Pro Asp Leu Glu Thr Tyr Ser Glu Gln Ser Pro Leu Gly Ala Ala Ile Leu Gly Ala Gln Glu Gly Asp Thr Arg Gln Tyr 135 Thr Ala Pro Asn Gly Ser Val Ile Ser Val Thr Val Val Ser Ala Glu Pro Tyr Asn Ser Ala Lys Ala Ala Thr Leu Arg Gly Lys Asn <210> 17 <211> 1012 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(982) <223> RXA00669 <400> 17 tttactgcgg gcattttacg tatctgcacc ccgcccggct gcgctgagca gccgtaaagc 60 115 gtggggcgtg acgtcgaaaa gcaaaaaatg aaaggcagac atg gac aat tca acg Met Asp Asn Ser Thr gtg cga atc cgg ctg gat cta gcg tat gac ggc acg gat ttt cat ggc 163 Val Arg Ile Arg Leu Asp Leu Ala Tyr Asp Gly Thr Asp Phe His Gly 10 tgg gcg aag cag ggg acc agc gat cta cgc acc gtg caa aaa gtg ttg 211 Trp Ala Lys Gln Gly Thr Ser Asp Leu Arg Thr Val Gln Lys Val Leu gaa gac aat ttg agc atg gtg ctg cgt gag act gtt gaa ttg act gtg 259 Glu Asp Asn Leu Ser Met Val Leu Arg Glu Thr Val Glu Leu Thr Val gcc ggg cga acc gat gcg ggg gtg cat gcg gcg ggc cag gtg gcg cac 307 Ala Gly Arg Thr Asp Ala Gly Val His Ala Ala Gly Gln Val Ala His 60 355 ttt gat att ccg gca cac gct tta gag cag cgc agt att gat ggc gat Phe Asp Ile Pro Ala His Ala Leu Glu Gln Arg Ser Ile Asp Gly Asp 75 403 cca age aag ttg gtt egg ege ttg ggt egg ttg etg eee gat gat att Pro Ser Lys Leu Val Arg Arg Leu Gly Arg Leu Leu Pro Asp Asp Ile cgg gtg cat ggc gta cgt ttt gcc gag ccc ggg ttt gat gcg cga ttt 451 Arg Val His Gly Val Arg Phe Ala Glu Pro Gly Phe Asp Ala Arg Phe 110 499 tee geg atg ege agg cac tae gtt tat ege att aeg aeg eat eee gee

Ser Ala Met Arg Arg His Tyr Val Tyr Arg Ile Thr Thr His Pro Ala

120 125 130

		120					1.40				730			
	gcg Ala 135				_									547
	gaa Glu													595
	gat Asp													643
	gaa Glu													691
	cag Gln													739
	gtg Val 215													787
	gga Gly													835
	atg Met													883
_	tát Tyr			_	_	_		_	_	_	 	_		931
	gtt Val													979
gag Glu	taaa	aggg	gac t	caaac	ctcgt	c to	tcgt	atct	:					1012

<210> 18

<211> 294

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 18

Met Asp Asn Ser Thr Val Arg Ile Arg Leu Asp Leu Ala Tyr Asp Gly
1 5 10 15

Thr Asp Phe His Gly Trp Ala Lys Gln Gly Thr Ser Asp Leu Arg Thr 20 25 30

Val Gln Lys Val Leu Glu Asp Asn Leu Ser Met Val Leu Arg Glu Thr 35 40 45

Val Glu Leu Thr Val Ala Gly Arg Thr Asp Ala Gly Val His Ala Ala

WO 03/040180 PCT/EP02/12138

50 55 60

Gly Gln Val Ala His Phe Asp Ile Pro Ala His Ala Leu Glu Gln Arg
65 70 75 80

Ser Ile Asp Gly Asp Pro Ser Lys Leu Val Arg Arg Leu Gly Arg Leu 85 90 95

Leu Pro Asp Asp Ile Arg Val His Gly Val Arg Phe Ala Glu Pro Gly
100 105 110

Phe Asp Ala Arg Phe Ser Ala Met Arg Arg His Tyr Val Tyr Arg Ile 115 120 125

Thr Thr His Pro Ala Gly Ala Leu Pro Thr Arg Arg His Asp Thr Ala 130 135 140

Gln Trp Pro Lys Pro Val Glu Leu Glu Arg Met Gln Leu Ala Ala Asp 145 150 155 160

Ala Leu Leu Gly Leu His Asp Phe Val Ala Phe Cys Lys Ala Lys Pro 165 170 175

His Ala Thr Thr Val Arg Glu Leu Gln Lys Phe Ala Trp Lys Asp Val

Ser Thr Asp Ile Glu Pro Gln Val Tyr Glu Ala His Val Val Ala Asp 195 200 205

Ala Phe Cys Trp Ser Met Val Arg Ser Leu Val Gly Ser Cys Met Ala 210 215 220

Val Gly Glu Gly Arg Gly Ser Gly Phe Thr Ala Glu Leu Leu Asp 225 230 235 240

Ala Ser Glu Arg Ser Pro Met Val Pro Val Ala Pro Ala Lys Gly Leu 245 250 255

Ser Leu Val Gly Val Asp Tyr Pro Ser Ala Asp Lys Leu Gln Glu Arg 260 265 270

Ala Leu Glu Thr Arg Ala Val Arg Glu Phe Pro Asp Ala Ser Ala Ser 275 280 285

Leu Lys Leu Asp Asp Glu 290

<210> 19

<211> 3022

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(2992)

<223> RXA01061

<400> 19

gcagacaaga ctgagcagtc cgacggcgat aagcagtggt ttccacataa ttcttcaagt 60

ctatctactt attgagggga ggaagaattg ccctccacac atg aga tgt ccc gtg 115

Met Arg Cys Pro Val

1 5

	cta Leu															163
	ctg Leu															211
	tgg Trp															25 9
	gtg Val 55															307
	ctc Leu															355
cac His	gta Val	ggc Gly	cac His	cca Pro 90	ctc Leu	ggt Gly	tac Tyr	atc Ile	gca Ala 95	acg Thr	gat Asp	gtt Val	ttc Phe	gcc Ala 100	cgc Arg	403
tac Tyr	aac Asn	cgc Arg	atg Met 105	ctg Leu	ggc Gly	aag Lys	aac Asn	gtt Val 110	ctg Leu	cac His	acc Thr	ttg Leu	ggc Gly 115	tat Tyr	gac Asp	451
	ttc Phe															499
cca Pro	cgc Arg 135	acc Thr	acc Thr	acc Thr	atg Met	gcc Ala 140	aac Asn	att Ile	gag Glu	aac Asn	atg Met 145	aag Lys	cgc Arg	cag Gln	ctc Leu	547
ggt Gly 150	gcg Ala	ctg Leu	ggt Gly	ctt Leu	ggc Gly 155	cat His	gat Asp	tcc Ser	cgt Arg	cgt Ar g 160	gcg Ala	gtg Val	gcc Ala	acc Thr	acg Thr 165	595
gat Asp	cct Pro	gag Glu	ttc Phe	tac Tyr 170	aag Lys	tgg Trp	act Thr	cag Gln	tgg Trp 175	atc Ile	ttc Phe	ctg Leu	cag Gln	att Ile 180	ttc Phe	643
aat Asn	tcg Ser	tgg Trp	ttc Phe 185	gat Asp	gca Ala	gag Glu	cag Gln	cag Gln 190	aag Lys	gca Ala	cgt Arg	ccc Pro	atc Ile 195	agt Ser	gag Glu	691
ctg Leu	att Ile	ccg Pro 200	ttg Leu	ctg Leu	gag Glu	tcc Ser	ggc Gly 205	gag Glu	ctg Leu	aag Lys	act Thr	aag Lys 210	gac Asp	Gly ggg	gcg Ala	739
gat Asp	tac Tyr 215	aac Asn	gcg Ala	ctg Leu	gga Gly	gac Asp 220	gtc Val	gaa Glu	aag Lys	caa Gln	aaa Lys 225	gcg Ala	gtg Val	gat Asp	gac Asp	787
tac Tyr 230	cgc	ctt Leu	gtt Val	tat Tyr	cgc Arg 235	tcg Ser	aac Asn	tcc Ser	acc Thr	gtg Val 240	aac Asn	tgg Trp	tgc Cys	cca Pro	ggc Gly 245	835
ttg Leu	ggc Gly	acc Thr	gtg Val	ttg Leu 250	gca Ala	aac Asn	gag Glu	gaa Glu	gtg Val 255	acc Thr	gcg Ala	gac Asp	ggc Gly	cgt Arg 260	tcc Ser	883

	cgt Arg															931
	cgc Arg															979
	gat Asp 295													_		1027
	tcc Ser															1075
	gtg Val															1123
	ctt Leu															1171
	tcc Ser															1219
	gcg Ala 375															1267
	ctg Leu															1315
gtt Val	tac Tyr	gcg Ala	acc Thr	aac Asn 410	cca Pro	gtc Val	aac Asn	ggc Gly	gat Asp 415	cag Gln	atc Ile	aca Thr	gtg Val	ttc Phe 420	atc Ile	1363
gct Ala	gac Asp	tac Tyr	gtt Val 425	ctg Leu	acc Thr	ggc Gly	tac Tyr	ggc Gly 430	acc Thr	ggc Gly	gcc Ala	atc Ile	atg Met 435	gcg Ala	gtt Val	1411
cct Pro	gct Ala	cac His 440	gac Asp	gag Glu	cgc Arg	gac Asp	tac Tyr 445	gaa Glu	ttc Phe	gcc Ala	acc Thr	gtt Val 450	ttg Leu	ggt Gly	ctg Leu	1459
	atc Ile 455															1507
	gaa Glu															1555
	aac Asn															1603
ttg Leu	gaa															1651

-		ctg Leu 520			_	_	_		 					1699
		gac Asp												1747
		gag Glu												1795
	_	gac Asp	_	_					_	_	_	_	_	1843
		gtt Val												1891
		gac Asp 600												1939
		c g c Arg												1987
		gaa Glu												2035
		cca Pro												2083
		cac His												2131
		cac His 680												2179
		atc Ile												2227
		gat Asp												2275
		gtc Val												2323
		gcc Ala												2371
		tac Tyr 760												2419

	acc Thr 775														2467
_	ctc Leu	_	-	_	_				_			_	_		2515
-	ctc Leu		-	_	_		_		_		_				2563
-	cgc Arg	-	_				_	_	_			 _		_	2611
	atc Ile	-		-			_					_			26 5 9
	gct Ala 855														2707
	cac His						_	_							2755
_	acc Thr		_												2803
_	gaa Glu		_												2851
	acc Thr	_	-	_	-	-	_	_		_	_		_		2899
	gcc Ala 935														2947
	cag Gln														2992
taat	cccc	ct c	ggtt	taga	at to	ccct	agaa	ı							3022

<210> 20

<211> 964

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 20

Met Arg Cys Pro Val Tyr Leu Leu His Cys Leu Thr Met Thr Asn Pro 1 5 10 15

Ser Glu Gly Thr Thr Pro Leu Ala Phe Arg Tyr Thr Pro Glu Leu Ala 20 25 30 .

Asn Lys Ile Glu Gly Glu Trp Gln Asn Tyr Trp Thr Asp Asn Gly Thr Phe Asn Ala Pro Asn Pro Val Gly Asp Leu Ala Pro Ala Asp Gly Lys Ala Leu Pro Glu Asp Lys Leu Phe Val Gln Asp Met Phe Pro Tyr Pro 75 Ser Gly Ala Gly Leu His Val Gly His Pro Leu Gly Tyr Ile Ala Thr Asp Val Phe Ala Arg Tyr Asn Arg Met Leu Gly Lys Asn Val Leu His 100 105 Thr Leu Gly Tyr Asp Ala Phe Gly Leu Pro Ala Glu Gln Tyr Ala Ile 120 Gln Thr Gly Thr His Pro Arg Thr Thr Thr Met Ala Asn Ile Glu Asn 135 Met Lys Arg Gln Leu Gly Ala Leu Gly Leu Gly His Asp Ser Arg Arg 150 155 Ala Val Ala Thr Thr Asp Pro Glu Phe Tyr Lys Trp Thr Gln Trp Ile 170 165 Phe Leu Gln Ile Phe Asn Ser Trp Phe Asp Ala Glu Gln Gln Lys Ala 185 Arg Pro Ile Ser Glu Leu Ile Pro Leu Leu Glu Ser Gly Glu Leu Lys 200 195 Thr Lys Asp Gly Ala Asp Tyr Asn Ala Leu Gly Asp Val Glu Lys Gln 215 Lys Ala Val Asp Asp Tyr Arg Leu Val Tyr Arg Ser Asn Ser Thr Val 225 Asn Trp Cys Pro Gly Leu Gly Thr Val Leu Ala Asn Glu Glu Val Thr Ala Asp Gly Arg Ser Glu Arg Gly Asn Phe Pro Val Phe Arg Lys Asn Leu Ser Gln Trp Met Met Arg Ile Thr Ala Tyr Ser Asp Arg Leu Ile 280 Asp Asp Leu Glu Leu Leu Asp Trp Thr Glu Lys Val Lys Ser Met Gln 295 Arg Asn Trp Ile Gly Arg Ser Arg Gly Ala Glu Val Asp Phe Ser Ala 310 315 Glu Gly Glu Thr Val Thr Val Phe Thr Thr Arg Pro Asp Thr Leu Phe 330 Gly Ala Thr Tyr Met Val Leu Ala Pro Glu His Glu Leu Val Asp Val 345 Leu Leu Glu Lys Ala Gly Ser Tyr Glu Gly Val Asp Ala Arg Trp Thr Asn Gly Gln Ala Ser Pro Ala Glu Ala Val Ala Ala Tyr Arg Ala Ser

375 380 370

Ile Ala Ala Lys Ser Asp Leu Glu Arg Gln Glu Asn Lys Glu Lys Thr 390 395 385 Gly Val Phe Leu Gly Val Tyr Ala Thr Asn Pro Val Asn Gly Asp Gln 410 Ile Thr Val Phe Ile Ala Asp Tyr Val Leu Thr Gly Tyr Gly Thr Gly 425 Ala Ile Met Ala Val Pro Ala His Asp Glu Arg Asp Tyr Glu Phe Ala 440 Thr Val Leu Gly Leu Pro Ile Lys Glu Val Val Ala Gly Gly Asn Ile 455 450 Glu Glu Ala Ala Phe Thr Glu Ser Gly Glu Ala Val Asn Ser Ala Asn 470 Asp Asn Gly Leu Asp Ile Asn Gly Leu Ala Lys Asp Glu Ala Ile Ala 485 Lys Thr Ile Glu Trp Leu Glu Glu Lys Glu Leu Gly Arg Gly Thr Ile Gln Tyr Lys Leu Arg Asp Trp Leu Phe Ala Arg Gln Arg Tyr Trp Gly 515 Glu Pro Phe Pro Ile Val Tyr Asp Glu Asn Gly Gln Ala His Ala Leu Pro Asp Ser Met Leu Pro Val Glu Leu Pro Glu Val Glu Asp Tyr Lys 545 555 Pro Val Ser Phe Asp Pro Glu Asp Ala Asp Ser Glu Pro Ser Pro Pro 570 Leu Ala Lys Ala Arg Glu Trp Val Glu Val Glu Leu Asp Leu Gly Asp 585 Gly Lys Lys Lys Tyr Thr Arg Asp Thr Asn Val Met Pro Gln Trp Ala 600 Gly Ser Ser Trp Tyr Gln Leu Arg Tyr Val Asp Pro Ser Asn Asp Glu 610 Gln Phe Cys Asn Ile Glu Asn Glu Arg Tyr Trp Thr Gly Pro Arg Pro 635 630 Glu Thr His Gly Pro Asn Asp Pro Gly Gly Val Asp Leu Tyr Val Gly 645 Gly Val Glu His Ala Val Leu His Leu Leu Tyr Ala Arg Phe Trp His 665 Lys Val Leu Phe Asp Leu Gly His Val Ser Ser Lys Glu Pro Tyr Arg 680 675 Arg Leu Tyr Asn Gln Gly Tyr Ile Gln Ala Phe Ala Tyr Thr Asp Ser 695 Arg Gly Val Tyr Val Pro Ala Asp Asp Val Glu Glu Lys Asp Gly Lys 715

710

Phe Phe Tyr Gln Gly Glu Glu Val Asn Gln Glu Tyr Gly Lys Met Gly 725 730 735

Lys Ser Leu Lys Asn Ala Val Ala Pro Asp Asp Ile Cys Asn Asn Phe 740 745 750

Gly Ala Asp Thr Leu Arg Val Tyr Glu Met Ala Met Gly Pro Leu Asp
755 760 765

Thr Ser Arg Pro Trp Ala Thr Lys Asp Val Val Gly Ala Gln Arg Phe 770 785 780

Leu Gln Arg Leu Trp Arg Leu Val Val Asp Glu Asn Thr Gly Glu Val 785 790 795 800

Leu Thr Arg Asp Glu Val Leu Thr Asp Asp Asp Asn Lys Gln Leu His 805 810 815

Arg Thr Ile Ala Gly Val Arg Asp Asp Tyr Thr Asn Leu Arg Val Asn 820 825 830

Thr Val Val Ala Lys Leu Ile Glu Tyr Val Asn Tyr Leu Thr Lys Thr 835 840 845

Tyr Pro Asp Thr Ile Pro Ala Gly Ala Val Leu Pro Leu Ile Val Met 850 855 860

Val Ser Pro Ile Ala Pro His Ile Ala Glu Glu Leu Trp Lys Lys Leu 865 870 875 880

Gly His Asp Asp Thr Val Thr Tyr Glu Pro Phe Pro Thr Phe Glu Glu 885 890 895

Lys Trp Leu Thr Asp Asp Glu Ile Glu Leu Pro Val Gln Val Asn Gly 900 905 910

Lys Val Arg Gly Arg Ile Thr Val Ala Ala Asp Ala Ser Gln Glu Gln 915 920 925

Val Ile Glu Ala Ala Leu Ala Asp Glu Lys Val Gln Glu Gln Ile Ser 930 935 940

Gly Lys Asn Leu Ile Lys Gln Ile Val Val Pro Gly Arg Met Val Asn 945 950 955 960

Leu Val Val Lys

<210> 21

<211> 2248

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(2218)

<223> RXA01277

<400> 21

gaccagccga atctacattc cttattctgc tggcgttaca attcagggcc aaacccgtat 60

gatgaaaaag acaccgggga aatcggagtg cgcgtagatt ttg aaa acg gcc ggt 115 Leu Lys Thr Ala Gly

											1				5	
		cgg Arg		_		_	_	_	_					-		163
		cgc Arg														211
	_	act Thr 40	_		_			_								259
		tgg Trp														307
		gcc Ala														355
	_	gat Asp	_		_			_					_	_		403
		tgg Trp														451
		gag Glu 120														499
		gat Asp														547
		gtt Val														595
tcg Ser	cgg Arg	ggc Gly	Gl ^A aaa	gct Ala 170	gat Asp	gcg Ala	acg Thr	gtg Val	att Ile 175	agg Arg	gag Glu	t t t Phe	gat Asp	ctg Leu 180	gcc Ala	643
_	_	gct Ala					_			_	_	_				691
		gtc Val 200														739
		gag Glu														787
		aag Lys														83 5
ggg	tcg	cgt	cag	gat	gtg	gcg	act	cat	gcg	tgg	cgg	gat	tca	aca	cct	883

										4.1						
Gly	Ser	Arg	Gln	Asp 250	Val	Ala	Thr	His	Ala 255	Trp	Arg	qaA	Ser	Thr 260	Pro	
_		_	cgg Arg 265			_		_								931
			ctg Leu													979
			gat Asp													1027
			ttc Phe													1075
			ttc Phe													1123
			tcg Ser 345													1171
			acg Thr													1219
ccg Pro	ctc Leu 375	aat Asn	gat Asp	ccg Pro	aca Thr	acg Thr 380	gag Glu	cat His	gaa Glu	cac His	att Ile 385	gac Asp	ctc Leu	cca Pro	gag Glu	1267
			gcg Ala													1315
att Ile	tgg Trp	gtg Val	cag Gln	gca Ala 410	Ala	Ser	Phe	Thr	Glu	Ala	cca Pro	acg Thr	ttg Leu	ctg Leu 420	cgt Arg	1363
			cct Pro 425													1411
			gct Ala													1459
gat Asp	gga Gly 455	acg Thr	aag Lys	att Ile	ccg Pro	tac Tyr 460	ttt Phe	att Ile	aca Thr	gga Gly	gcc Ala 465	ttc Phe	gag Glu	gag Glu	gaa Glu	1507
cca Pro 470	caa Gln	aac Asn	acc Thr	ctg Leu	gtc Val 475	cac His	gcc Ala	tac Tyr	ggc Gly	ggc Gly 480	ttc Phe	gag Glu	gtt Val	tcc Ser	ctt Leu 485	1555
			cac His													1603
tac	tac	ttt	gtg	gaa	gcc	aac	ctg	cgt	ggt	ggc	ggt	gaa	ttc	ggt	ccg	1651

	wo	03/04	0100							42					1	. 1 / L.F U2/
Tyr	Tyr	Phe	Val 505	Glu	Ala	Asn	Leu	Arg 510	Gly	Gly	Gly	Glu	Phe 515	Gly	Pro	
_			_	_	gca Ala		_	_		_	_	_				1699
					ctc Leu											1747
					att Ile 555											1795
					cag Gln											1843
_		_	_	_	gat Asp											1891
					gag Glu											1939
					tac Tyr											1987
					ecc Pro 635											2035
					cac His											2083
					gat Asp											2131
					aag Lys											2179
					act Thr								taat	acct	at	2228
gatt	atgo	ga a	ıggct	gcgc	et											2248

<210> 22

<211> 706

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 22

Leu Lys Thr Ala Gly Thr Thr Arg Phe Thr Phe Thr Ser Ala Asp Pro 1 5 10 15

- Ile Gly Gly Ala Leu Gly Ser Arg Leu Lys Lys Pro Ala Gly Gln Lys
 20 25 30
- Ile Thr Asn Leu Asn Phe Met Thr Asp Tyr Thr Phe Leu Glu Asp Ile 35 40 45
- Asp Thr Pro Glu Ala Leu Ala Trp Ala Glu Lys Trp Ser Gly Glu Ser 50 55 60
- Val Glu Lys Leu Lys Ser Pro Ala Lys Asp Ala Leu Glu Ala Arg Leu 65 70 75 80
- Leu Ala Ala Leu Asp Thr Asp Asp Arg Ile Ala Tyr Val Ser Arg Arg
- Gly Glu Lys Leu Tyr Asn Phe Trp Arg Asp Ala Gln His Pro Arg Gly
 100 105 110
- Val Trp Arg Thr Thr Leu Glu Ser Tyr Glu Ser Asp Gln Pro Glu
 115 120 125
- Trp Asp Val Leu Ile Asp Val Asp Ala Leu Ala Glu Asp Glu Gly Glu 130 135 140
- Asn Trp Val Trp Lys Gly Ala Val Val Arg Ser Pro Glu Phe Asp Arg 145 150 155 160
- Ala Leu Val Lys Phe Ser Arg Gly Gly Ala Asp Ala Thr Val Ile Arg 165 170 175
- Glu Phe Asp Leu Ala Thr Ala Ala Phe Val Asp Asp Ser Pro Phe Glu 180 185 190
- Leu Glu Glu Ala Lys Ser Asp Val Thr Trp Val Asp Leu Asp Thr Leu 195 200 205
- Leu Val Gly Thr Asp Thr Gly Glu Gly Ser Leu Thr Asp Ser Gly Tyr 210 215 220
- Pro Ala Arg Val Leu Thr Trp Lys Arg Gly Thr Pro Leu Glu Gln Ala 225 230 235 240
- Glu Leu Phe Phe Glu Gly Ser Arg Gln Asp Val Ala Thr His Ala Trp 245 250 255
- Arg Asp Ser Thr Pro Gly Phe Glu Arg Thr Phe Val Ser Arg Ser Leu 260 265 270
- Asp Phe Tyr Asn Ser Glu Thr Ser Leu Glu Thr Glu Gly Gly Leu Val 275 280 285
- Lys Leu Asp Val Pro Thr Asp Cys Asp Val Ile Val Lys Lys Gln Trp 290 295 300
- Ile Phe Val Ser Pro Arg Thr Asp Phe Ala Gly Ile Pro Ala Gly Gly 305 310 315 320
- Leu Gly Val Leu Leu Leu Lys Glu Phe Leu Glu Gly Gly Arg Asp Phe 325 330 335
- Gln Pro Val Phe Thr Pro Thr Glu Ser Thr Ser Leu Gln Gly Leu Ala 340 345 350
- Thr Thr Lys Asn Phe Leu Val Leu Thr Leu Leu Asn Asn Val Ser Thr

355 360 365

Glu Ile Val Thr Val Pro Leu Asn Asp Pro Thr Thr Glu His Glu His 370 375 . 380

Ile Asp Leu Pro Glu His Val Thr Ala His Val Val Ala Thr Ser Pro 385 390 395 400

Leu Asp Gly Asp Glu Ile Trp Val Gln Ala Ala Ser Phe Thr Glu Ala 405 410 415

Pro Thr Leu Leu Arg Ala Glu Leu Pro Gly Ala Leu Glu Ala Val Lys 420 425 430

Lys Ala Pro Leu Gln Phe Glu Asn Ala Gly Gln Glu Thr Arg Gln His
435
440
445

Trp Ala Thr Ser Ala Asp Gly Thr Lys Ile Pro Tyr Phe Ile Thr Gly
450 455 460

Ala Phe Glu Glu Glu Pro Gln Asn Thr Leu Val His Ala Tyr Gly Gly 465 470 480

Phe Glu Val Ser Leu Thr Pro Ser His Ser Pro Thr Arg Gly Ile Ala 485 490 495

Trp Leu Glu Lys Gly Tyr Tyr Phe Val Glu Ala Asn Leu Arg Gly Gly 500 505 510

Gly Glu Phe Gly Pro Glu Trp His Ser Gln Ala Thr Lys Leu Asn Arg 515 520 525

Met Lys Val Trp Glu Asp His Arg Ala Val Leu Ala Asp Leu Val Glu 530 535 540

Arg Gly Tyr Ala Thr Pro Glu Gln Ile Ala Ile Arg Gly Gly Ser Asn 545 550 555 560

Gly Gly Leu Leu Thr Ser Gly Ala Leu Thr Gln Tyr Pro Glu Ala Phe 565 570 575

Gly Ala Ala Val Val Gln Val Pro Leu Ala Asp Met Leu Arg Tyr His 580 585 590

Thr Trp Ser Ala Gly Ala Ser Trp Met Ala Glu Tyr Gly Asn Pro Asp 595 600 605

Asp Pro Glu Glu Arg Ala Val Ile Glu Gln Tyr Ser Pro Val Gln Ala 610 615 620

Val Val Gly Val Glu Lys Arg Ile Tyr Pro Pro Ala Leu Val Thr Thr 625 630 635 640

Ser Thr Arg Asp Asp Arg Val His Pro Ala His Ala Arg Leu Phe Ala 645 650 655

Gln Ala Leu Leu Asp Ala Gly Gln Ala Val Asp Tyr Tyr Glu Asn Thr 660 665 670

Glu Gly Gly His Ala Gly Ala Ala Asp Asn Lys Gln Thr Ala Phe Val 675 680 685

Glu Ser Leu Ile Tyr Thr Trp Ile Glu Lys Thr Leu Asp Gln Gln Gly 690 695 700

Ser Ile 705 <210> 23 <211> 2257 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(2227) <223> RXA01278 <400> 23 ttatccqtag gtgacaaact ttttaatact tgggtatctg tcatggatac cccggtaata 60 aataagtgaa ttaccgtaac caacaagttg gggtaccact gtg gca caa gaa gtg Val Ala Gln Glu Val 163 ctt aag gat cta aac aag gtc cgc aac atc ggc atc atg gcg cac atc Leu Lys Asp Leu Asn Lys Val Arg Asn Ile Gly Ile Met Ala His Ile 211 gat gct ggt aag acc acg acc acc gaa cgc atc ctc ttc tac acc ggc Asp Ala Gly Lys Thr Thr Thr Glu Arg Ile Leu Phe Tyr Thr Gly atc aac cgt aag gtc ggt gag acc cac gac ggt ggc gca acc acc gac 259 Ile Asn Arg Lys Val Gly Glu Thr His Asp Gly Gly Ala Thr Thr Asp tgg atg gag cag gag aag gaa cgc ggc atc acc att acc tcc gcc gcg 307 Trp Met Glu Gln Glu Lys Glu Arg Gly Ile Thr Ile Thr Ser Ala Ala gtt acc tgt ttc tgg gat aac aac cag gtc aac atc att gac acc cct Val Thr Cys Phe Trp Asp Asn Asn Gln Val Asn Ile Ile Asp Thr Pro 403 ggc cac gtt gac ttc acc gtt gag gtt gag cgt tcc ctc cgc gtg ctt Gly His Val Asp Phe Thr Val Glu Val Glu Arg Ser Leu Arg Val Leu 90 gac ggc gca gtt gct gtg ttc gac ggc aag gaa ggc gtt gag cca cag 451 Asp Gly Ala Val Ala Val Phe Asp Gly Lys Glu Gly Val Glu Pro Gln 110 tct gag cag gtt tgg cgt cag gct acc aag tac gac gtt cca cgt atc 499 Ser Glu Gln Val Trp Arg Gln Ala Thr Lys Tyr Asp Val Pro Arg Ile tgc ttc gtg aac aag atg gac aag ctc ggt gct gac ttc tac ttc acc 547 Cys Phe Val Asn Lys Met Asp Lys Leu Gly Ala Asp Phe Tyr Phe Thr gtt ggc acc atc gag gac cgc ctg ggt gca aag cca ttg gtt atg cag 595 Val Gly Thr Ile Glu Asp Arg Leu Gly Ala Lys Pro Leu Val Met Gln 155 ctc cca atc ggt gct gag gac aac ttc gac ggc gtc atc gac ctt ctt

Leu Pro Ile Gly Ala Glu Asp Asn Phe Asp Gly Val Ile Asp Leu Leu

WO 03/040180										46								
					170					175					180			
						acc Thr	_	_		_				-			691	
	_		_			atc Ile		-			-	-	_	-			739	
		_		_		ctc Leu			-	_			_	_			787	
		-				ggt Gly 235							-			_	835	
	~	_		_	_	atg Met	_	~							_		883	
						aag Lys											931	
	_	-	-		-	cct Pro			-	_		_	-				979	
		-	-	_	-	cct Pro		_	_	_		-	-			-	1027	
		-				gca Ala 315											1075	
						ttc Phe											1123	
						aac Asn											1171	
						cac His											1219	
	His					tac Tyr											1267	
						gac Asp 395											1315	
						gtt Val			Val								1363	

tct gac cag gag aag ctc ggc gta gct atc cag aag ctt gct gaa gaa

										4/						
Ser	Asp	Gln	Glu 425	Lys	Leu	Gly	Va1	Ala 430	Ile	Gln	Lys	Leu	Ala 435	Glu	Glu	
gac Asp	cca Pro	acc Thr 440	ttc Phe	acc Thr	gtt Val	cac His	ttg Leu 445	gac Asp	gat Asp	gag Glu	tcc Ser	ggc Gly 450	cag Gln	acc Thr	gtc Val	1459
														cgc Arg		1507
														gtt Val		1555
tac Tyr	cgt Arg	gag Glu	acc Thr	atc Ile 490	cgt Arg	aag Lys	cct Pro	gtt Val	gag Glu 495	tcc Ser	ctc Leu	agc Ser	tac Tyr	acc Thr 500	cac His	1603
aag Lys	aag Lys	cag Gln	act Thr 505	ggt Gly	ggt Gly	tcc Ser	ggt Gly	cag Gln 510	ttc Phe	gct Ala	aag Lys	gtc Val	atc Ile 515	atc Ile	acc Thr	1651
att Ile	gag Glu	cct Pro 520	tac Tyr	gca Ala	cct Pro	gag Glu	gca Ala 525	gac Asp	gag Glu	ctt Leu	gaa Glu	gag Glu 530	ggc	gag Glu	tcc Ser	1699
														cca Pro		1747
gaa Glu 550	tac Tyr	atc Ile	cca Pro	tcc Ser	gtt Val 555	gac Asp	gct Ala	ggt Gly	atc Ile	cag Gln 560	gac Asp	gca Ala	atg Met	cag Gln	tac Tyr 565	1795
ggc Gly	ttc Phe	ctg Leu	gct Ala	ggc Gly 570	tac Tyr	cca Pro	ctg Leu	gtt Val	aac Asn 575	gtc Val	aag Lys	gca Ala	acc Thr	ctt Leu 580	gaa Glu	1843
gat Asp	ggc Gly	Ala	tac Tyr 585	His	Asp	Val	gac Asp	Ser	Ser	Glu	Met	Ala	Phe	aag Lys	ctc Leu	1891
														cca Pro		1939
ctc Leu	ctc Leu 615	gag Glu	cca Pro	atc Ile	atg Met	tcc Ser 620	gtt Val	gaa Glu	atc Ile	acc Thr	act Thr 625	cct Pro	gag Glu	gag Glu	tac Tyr	1987
atg Met 630	ggt Gly	gaa Glu	gtc Val	atc Ile	ggt Gly 635	gac Asp	gtg Val	aac Asn	tcc Ser	cgc Arg 640	cgt Arg	Gly	cag Gln	atc Ile	gct Ala 645	2035
														gtt Val 660		2083
														acc Thr		2131
ggt	cgt	gca	aac	tac	tcc	atg	gtc	ttc	gat	tcc	tac	gct	gag	(gtc	cca	2179

Gly Arg Ala Asn Tyr Ser Met Val Phe Asp Ser Tyr Ala Glu Val Pro 680 685 690

gcc aac gtt gcc gca gat gtt att gct gag cgc aac ggc acc gct tcc 2227
Ala Asn Val Ala Ala Asp Val Ile Ala Glu Arg Asn Gly Thr Ala Ser
695 700 705

taaagatcgt ttagatccga aggaaaacgt

2257

<210> 24

<211> 709

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 24

Val Ala Gln Glu Val Leu Lys Asp Leu Asn Lys Val Arg Asn Ile Gly
1 5 10 15

Ile Met Ala His Ile Asp Ala Gly Lys Thr Thr Thr Thr Glu Arg Ile
20 25 30

Leu Phe Tyr Thr Gly Ile Asn Arg Lys Val Gly Glu Thr His Asp Gly 35 40 45

Gly Ala Thr Thr Asp Trp Met Glu Gln Glu Lys Glu Arg Gly Ile Thr
50 55 60

Ile Thr Ser Ala Ala Val Thr Cys Phe Trp Asp Asn Asn Gln Val Asn 65 70 75 80

Ile Ile Asp Thr Pro Gly His Val Asp Phe Thr Val Glu Val Glu Arg
85 90 95

Ser Leu Arg Val Leu Asp Gly Ala Val Ala Val Phe Asp Gly Lys Glu 100 105 110

Gly Val Glu Pro Gln Ser Glu Gln Val Trp Arg Gln Ala Thr Lys Tyr 115 120 125

Asp Val Pro Arg Ile Cys Phe Val Asn Lys Met Asp Lys Leu Gly Ala 130 135 140

Asp Phe Tyr Phe Thr Val Gly Thr Ile Glu Asp Arg Leu Gly Ala Lys 145 150 155 160

Pro Leu Val Met Gln Leu Pro Ile Gly Ala Glu Asp Asn Phe Asp Gly
165 170 175

Val Ile Asp Leu Leu Glu Met Lys Ala Leu Thr Trp Arg Gly Val Thr 180 185 190

Pro Ile Gly Thr Glu Ala Thr Val Glu Glu Ile Pro Ala Glu Leu Ala 195 200 205

Asp Arg Ala Ala Glu Tyr Arg Glu Lys Leu Leu Glu Thr Val Ala Glu 210 215 220

Ser Asp Glu Glu Leu Met Glu Lys Tyr Phe Gly Gly Glu Glu Leu Ser 225 230 235 240

Ile Ala Glu Ile Lys Ala Ala Ile Arg Lys Met Val Val Asn Ser Glu 245 250 255

										49					
Ile	Tyr	Pro	Val 260	Tyr	Cys	Gly	Thr	Ala 265	Tyr	Lys	Asn	Lys	Gly 270	Ile	Gln
Pro	Leu	Leu 275	Asp	Ala	Val	Val	Asp 280	Phe	Leu	Pro	Ser	Pro 285	Leu	Asp	Leu
Gly	Glu 290	Thr	Lys	Gly	Thr	Asp 295	Val	Lys	Asp	Pro	Glu 300	Lys	Val	Leu	Thr
Arg 30 5	Lys	Pro	Ser	Asp	Glu 310	Glu	Pro	Leu	Ser	Ala 315	Leu	Ala	Phe	Lys	Ile 320
Ala	Ala	His	Pro	Phe 325	Phe	Gly	Lys	Leu	Thr 330	Phe	Val	Arg	Leu	Tyr 335	Ser
Gly	Lys	Val	Glu 340	Pro	Gly	Glu	Gln	Val 345	Leu	Asn	Ser	Thr	Lys 350	Asn	Lys
Lys	Glu	Arg 355	Ile	Gly	Lys	Leu	Phe 360	Gln	Met	His	Ala	Asn 365	Lys	Glu	Asn
Pro	Val 370	Glu	Val	Ala	His	Ala 375	Gly	Asn	Ile	Tyr	Ala 380	Phe	Ile	Gly	Leu
Lys 385	Asp	Thr	Thr	Thr	Gly 390	Asp	Thr	Leu	Cys	Asp 395	Ala	Asn	Ala	Pro	Ile 400
Ile	Leu	Glu	Ser	Met 405	Asp	Phe	Pro	Asp	Pro 410	Val	Ile	Gln	Val	Ala 415	Ile
Glu	Pro	Lys	Thr 420	Lys	Ser	Asp	Gln	Glu 425	Lys	Leu	Gly	Val	Ala 430	Ile	Gln
Lys	Leu	Ala 435	Glu	Glu	Asp	Pro	Thr 440	Phe	Thr	Val	His	Leu 445	Asp	Asp	Glu
Ser	Gly 450	Gln	Thr	Val	Ile	Gly 455	Gly	Met	Gly	Glu	Leu 460	His	Leu	Asp	Val
Leu 465	Val	Asp	Arg	Met	Lys 470	Arg	Glu	Phe	Lys	Val 475	Glu	Ala	Asn	Ile	Gly 480
Asp	Pro	Gln	Val	Ala 485	Tyr	Arg	Glu	Thr	Ile 490	Arg	Lys	Pro	Val	Glu 495	Ser
Leu	Ser	Tyr	Thr 500	His	Lys	Lys	Gln	Thr 505	Gly	Gly	Ser	Gly	Gln 510	Phe	Ala
Lys	Val	Ile 515	Ile	Thr	Ile	Glu	Pro 520	Tyr	Ala	Pro	Glu	Ala 525	Asp	Glu	Leu
Glu	Glu 530	Gly	Glu	Ser	Ala	Ile 535	Tyr	Lys	Phe	Glu	Asn 540	Ala	Val	Thr	Gly
Gly 545	Arg	Val	Pro	Arg	Glu 550	Tyr	Ile	Pro	Ser	Val 555	Asp	Ala	Gly	Ile	Gln 560
Asp	Ala	Met	Gln	Tyr 565	Gly	Phe	Leu	Ala	Gly 570	Tyr	Pro	Leu	Val	Asn 575	Val
Lys	Ala	Thr	Leu 580	Glu	Asp	Gly	Ala	Tyr 585	His	Asp	Val	Asp	Ser 590	Ser	Glu
Met	Ala	Phe	Lys	Leu	Ala	Gly	Ser	Gln	Ala	Phe	Lys	Glu	Ala	Val	Ala

595 600 605

Lys Ala Lys Pro Val Leu Leu Glu Pro Ile Met Ser Val Glu Ile Thr 610 615 620

Thr Pro Glu Glu Tyr Met Gly Glu Val Ile Gly Asp Val Asn Ser Arg 625 630 635 640

Arg Gly Gln Ile Ala Ser Met Asp Asp Arg Ala Gly Ala Lys Leu Val 645 650 655

Lys Ala Lys Val Pro Leu Ser Gln Met Phe Gly Tyr Val Gly Asp Leu 660 665 670

Arg Ser Lys Thr Gln Gly Arg Ala Asn Tyr Ser Met Val Phe Asp Ser 675 680 685

Tyr Ala Glu Val Pro Ala Asn Val Ala Ala Asp Val Ile Ala Glu Arg 690 695 700

Asn Gly Thr Ala Ser

<210> 25

<211> 1318

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(1288)

<223> RXA01284

<400> 25

atctgtgtgc tcagtcttcc aggctgctta tcacagtgaa agcaaaacca attcgtggct 60

gcgaaagtcg tagccaccac gaagtccagg aggacataca gtg gca aag gcg aag 115
Val Ala Lys Ala Lys

ttc gag cgt acc aag ccc cac gta aac atc ggc acc atc ggt cac gtt 163
Phe Glu Arg Thr Lys Pro His Val Asn Ile Gly Thr Ile Gly His Val
10 15 20

gac cac ggt aag acc acc acc gcg gct atc acc aag gtt ctg gct 211
Asp His Gly Lys Thr Thr Thr Ala Ala Ile Thr Lys Val Leu Ala
25 30 35

gac act tac cct gag ctc aac gag gct ttc gcc ttc gac tcc atc gat 259
Asp Thr Tyr Pro Glu Leu Asn Glu Ala Phe Ala Phe Asp Ser Ile Asp
40 45 50

aag get eet gag gag aag gag egt gge ate aeg ate aac ate tee eac 307 Lys Ala Pro Glu Glu Lys Glu Arg Gly Ile Thr Ile Asn Ile Ser His 55 60 65

gtt gag tac cag act gaa aag cgc cac tac gca cac gtt gac gct cca 355
Val Glu Tyr Gln Thr Glu Lys Arg His Tyr Ala His Val Asp Ala Pro
70 75 80 85

ggc cac gcc gac tac atc aag aac atg att acc ggc gct gct cag atg 403 Gly His Ala Asp Tyr Ile Lys Asn Met Ile Thr Gly Ala Ala Gln Met

									-							
_		_		ctc Leu	-	-	_	-		_			_		_	451
	-			gtt Val												499
				aac Asn												547
		-	-	atg Met												595
				cca Pro 170												643
				tgg Trp												691
				cct Pro												739
				gac Asp												787
				gag Glu												835
				aag Lys 250												883
				aag Lys												931
				cgt Arg												979
				cca Pro												1027
				ctg Leu												1075
				cgt Arg 330												1123
ggt	gtt	gtg	aag	ctt	cca	gag	ggc	acc	gag	atg	gtc	atg	cct	ggc	gac	1171

Gly Val Val Lys Leu Pro Glu Gly Thr Glu Met Val Met Pro Gly Asp 350 345 aac gtc gac atg tcc gtc acc ctg atc cag cct gtc gct atg gac gag 1219 Asn Val Asp Met Ser Val Thr Leu Ile Gln Pro Val Ala Met Asp Glu 360 1267 ggc ctg cgt ttc gct atc cgc gaa ggc tcc cgc acc gtt ggc gct ggt Gly Leu Arg Phe Ala Ile Arg Glu Gly Ser Arg Thr Val Gly Ala Gly 380 375 cgt gtc acc aag atc atc aag taatttgatg ctctaactgt tgaggtcttt 1318 Arg Val Thr Lys Ile Ile Lys <210> 26 <211> 396 <212> PRT <213> Corynebacterium glutamicum <400> 26 Val Ala Lys Ala Lys Phe Glu Arg Thr Lys Pro His Val Asn Ile Gly Thr Ile Gly His Val Asp His Gly Lys Thr Thr Thr Thr Ala Ala Ile Thr Lys Val Leu Ala Asp Thr Tyr Pro Glu Leu Asn Glu Ala Phe Ala Phe Asp Ser Ile Asp Lys Ala Pro Glu Glu Lys Glu Arg Gly Ile Thr 55 Ile Asn Ile Ser His Val Glu Tyr Gln Thr Glu Lys Arg His Tyr Ala His Val Asp Ala Pro Gly His Ala Asp Tyr Ile Lys Asn Met Ile Thr Gly Ala Ala Gln Met Asp Gly Ala Ile Leu Val Val Ala Ala Thr Asp 105 Gly Pro Met Pro Gln Thr Arg Glu His Val Leu Leu Ala Arg Gln Val 115 Gly Val Pro Tyr Ile Leu Val Ala Leu Asn Lys Cys Asp Met Val Glu 135 Asp Glu Glu Ile Ile Glu Leu Val Glu Met Glu Val Arg Glu Leu Leu 145 Ala Glu Gln Asp Tyr Asp Glu Glu Ala Pro Ile Val His Ile Ser Ala 170 Leu Lys Ala Leu Glu Gly Asp Glu Lys Trp Gly Lys Gln Ile Leu Glu 180 Leu Met Gln Ala Cys Asp Asp Asn Ile Pro Asp Pro Val Arg Glu Thr 200 Asp Lys Pro Phe Leu Met Pro Ile Glu Asp Ile Phe Thr Ile Thr Gly 220 210 215

Arg Gly Thr Val Val Thr Gly Arg Val Glu Arg Gly Thr Leu Asn Val 225 230 235 Asn Asp Asp Val Asp Ile Ile Gly Ile Lys Glu Lys Ser Thr Ser Thr Thr Val Thr Gly Ile Glu Met Phe Arg Lys Leu Leu Asp Ser Ala Glu 265 Ala Gly Asp Asn Cys Gly Leu Leu Leu Arg Gly Ile Lys Arg Glu Asp 280 Val Glu Arg Gly Gln Val Ile Val Lys Pro Gly Ala Tyr Thr Pro His 295 Thr Glu Phe Glu Gly Ser Val Tyr Val Leu Ser Lys Asp Glu Gly Gly Arg His Thr Pro Phe Phe Asp Asn Tyr Arg Pro Gln Phe Tyr Phe Arg 325 Thr Thr Asp Val Thr Gly Val Val Lys Leu Pro Glu Gly Thr Glu Met 345 Val Met Pro Gly Asp Asn Val Asp Met Ser Val Thr Leu Ile Gln Pro Val Ala Met Asp Glu Gly Leu Arg Phe Ala Ile Arg Glu Gly Ser Arg 375 Thr Val Gly Ala Gly Arg Val Thr Lys Ile Ile Lys 390 385 <210> 27 <211> 3625 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(3595) <223> RXA01344 <400> 27 gggggatcgg gttcctcagc agaccaattg ctcaaaaata ccagcggtgt tgatctgcac 60 ttaatggcct tgaccagcca ggtgcaatta cccgcgtgag gtg ctg gaa gga ccc Val Leu Glu Gly Pro 163 atc ttg gca gtc tcc cgc cag acc aag tca gtc gat att ccc ggt Ile Leu Ala Val Ser Arg Gln Thr Lys Ser Val Val Asp Ile Pro Gly 10 211 gca ccg cag cgt tat tct ttc gcg aag gtg tcc gca ccc att gag gtg Ala Pro Gln Arg Tyr Ser Phe Ala Lys Val Ser Ala Pro Ile Glu Val 25 ccc ggg cta cta gat ctt caa ctg gat tct tac tcc tgg ctg att ggt 259 Pro Gly Leu Leu Asp Leu Gln Leu Asp Ser Tyr Ser Trp Leu Ile Gly 40 307 acg cct gag tgg cgt gct cgt cag aag gaa gaa ttc ggc gag gga gcc

Thr	Pro 55	Glu	Trp	Arg	Ala	Arg 60	Gln	Lys	Glu	Glu	Phe 65	Gly	Glu	Gly	Ala	
cgc Arg 70	gta Val	acc Thr	agc Ser	ggc	ctt Leu 75	gag Glu	aac Asn	att Ile	ctc Leu	gag Glu 80	gag Glu	ctc Leu	tcc Ser	cca Pro	atc Ile 85	355
	gat Asp															403
gaa Glu	gac Asp	gtc Val	aag Lys 105	aac Asn	acc Thr	att Ile	gac Asp	gag Glu 110	gcg Ala	aaa Lys	gaa Glu	aag Lys	gac Asp 115	atc Ile	aac Asn	451
tac Tyr	gcg Ala	gcg Ala 120	cca Pro	ctg Leu	tat Tyr	gtg Val	acc Thr 125	gcg Ala	gag Glu	ttc Phe	gtc Val	aac Asn 130	aac Asn	acc Thr	acc Thr	499
ggt Gly	gaa Glu 135	atc Ile	aag Lys	tct Ser	cag Gln	act Thr 140	gtc Val	ttc Phe	atc Ile	ggc Gly	gat Asp 145	ttc Phe	cca Pro	atg Met	atg Met	547
acg Thr 150	gac Asp	aag Lys	gga Gly	acg Thr	ttc Phe 155	atc Ile	atc Ile	aac Asn	gga Gly	acc Thr 160	gaa Glu	cgc Arg	gtt Val	gtg Val	gtc Val 165	595
agc Ser	cag Gln	ctc Leu	gtc Val	cgc Arg 170	tcc Ser	ccg Pro	ggc Gly	gtg Val	tac Tyr 175	ttt Phe	gac Asp	cag Gln	acc Thr	atc Ile 180	gat Asp	643
aag Lys	tca Ser	act Thr	gag Glu 185	cgt Arg	cca Pro	ctg Leu	cac His	gcc Ala 190	gtg Val	aag Lys	gtt Val	att Ile	cct Pro 195	tcc Ser	cgt Arg	691
ggt Gly	gct Ala	tgg Trp 200	ctt Leu	gag Glu	ttt Phe	gac Asp	gtc Val 205	gat Asp	aág Lys	cgc Arg	gat Asp	tcg Ser 210	gtt Val	ggt Gly	gtt Val	739
cgt Arg	att Ile 215	gac Asp	cgc Arg	aag Lys	cgt Arg	cgc Arg 220	cag Gln	cca Pro	gtc Val	acc Thr	gta Val 225	ctg Leu	ctg Leu	aag Lys	gct Ala	787
ctt Leu 230	Gly ggc	tgg Trp	acc Thr	act Thr	gag Glu 235	cag Gln	atc Ile	acc Thr	gag Glu	cgt Arg 240	ttc Phe	ggt Gly	ttc Phe	tct Ser	gaa Glu 245	835
atc Ile	atg Met	atg Met	tcc Ser	acc Thr 250	ctc Leu	gag Glu	tcc Ser	gat Asp	ggt Gly 255	gta Val	gca Ala	aac Asn	acc Thr	gat Asp 260	gag Glu	883
gca Ala	ttg Leu	ctg Leu	gag Glu 265	atc Ile	tac Tyr	cgc Arg	aag Lys	cag Gln 270	cgt Arg	cca Pro	ggc Gly	gag Glu	cag Gln 275	cct Pro	acc Thr	931
cgc Arg	gac Asp	ctt Leu 280	gcg Ala	cag Gln	tcc Ser	ctc Leu	ctg Leu 285	gac Asp	aac Asn	agc Ser	ttc Phe	ttc Phe 290	cgt Arg	gca Ala	aag Lys	979
cgc Arg	tac Tyr 295	gac Asp	ctg Leu	gct Ala	cgc Arg	gtt Val 300	ggt Gly	cgt Arg	tac Tyr	aag Lys	atc Ile 305	aac Asn	cgc Arg	aag Lys	ctc Leu	1027
ggc	ctt	ggt	ggc	gac	cac	gat	ggt	ttg	atg	act	ctt	act	gaa	gag	gac	1075

-

										5:	,					
Gly 310		Gly	Gly	Asp	His 315	Asp	Gly	Leu	Met	Thr 320		Thr	Glu	Glu	Asp 325	
										Leu					cgc Arg	1123
	atg Met															1171
	gac Asp												Glu		atc Ile	1219
	aac Asn 375															1267
	cgt Arg															1315
	aac Asn															1363
	cag Gln															1411
	cac His															1459
	cgc Arg 455															1507
	atg Met	Cys	Pro		Glu	Thr		Glu	Gly	Pro	Asn	Ile	Gly			1555
	tcc Ser															1603
	cca Pro						Asp									1651
tac Tyr	ctt Leu	acc Thr 520	gct Ala	gat Asp	gag Glu	gaa Glu	gac Asp 525	cgc Arg	ttc Phe	gtt Val	gtt Val	gcg Ala 530	cag Gln	gca Ala	aac Asn	1699
acg Thr	cac His 535	tac Tyr	gac Asp	gaa Glu	gag Glu	ggc Gly 540	aac Asn	atc Ile	acc Thr	gat Asp	gag Glu 545	acc Thr	gtc Val	act Thr	gtt Val	1747
cgt Arg 550	ctg Leu	aag Lys	gac Asp	ggc Gly	gac Asp 555	atc Ile	gcc Ala	atg Met	gtt Val	ggc Gly 560	cgc Arg	aac Asn	gcg Ala	gtt Val	gat Asp 565	1795
tac	atg	gac	gtt	tcc	cct	cgt	cag	atg	gtt	tct	gtt	ggt	acc	gcg	atg	1843

										50						
Tyr	Met	Asp	Val	Ser 570	Pro	Arg	Gln	Met	Val 575	Ser	Val	Gly	Thr	Ala 580	Met	
							gat Asp									1891
							cca Pro 605									1939
							cgc Arg									1987
gtt Val 630	att Ile	acc Thr	cca Pro	gtc Val	gca Ala 635	ggt Gly	gtg Val	gtg Val	gaa Glu	aac Asn 640	gtt Val	tca Ser	gct Ala	gac Asp	ttc Phe 645	2035
							ggc Gly									2083
							ggc Gly									2131
gtt Val	aac Asn	ttg Leu 680	ggc Gly	gag Glu	cgc Arg	gtt Val	gaa Glu 685	gct Ala	ggc Gly	cag Gln	gtt Val	att Ile 690	gct Ala	gat Asp	ggt Gly	2179
cca Pro	ggt Gly 695	acc Thr	ttc Phe	aat Asn	ggt Gly	gaa Glu 700	atg Met	tcc Ser	ctt Leu	ggc Gly	cgt Arg 705	aac Asn	ctt Leu	ctg Leu	gtt Val	2227
							cac His									2275
							gac Asp									2323
							gac Asp									2371
							tct Ser 765									2419
							ggt Gly									2467
							aag Lys									2515
							ttc Phe								cgc Arg·	2563
gat	acc	tcc	atg	aag	gtg	cct	cac	ggt	gag	acc	ggc	aag	gtc	atc	ggc	2611

										57						
Asp	Thr	Ser	Met 825	Lys	Val	Pro	His	Gly 830	Glu	Thr	Gly	Lys	Val 835	Ile	Gly	
					cgc Arg											2659
					atc Ile											2707
					ggc Gly 875											2755
					gat Asp											2803
					acc Thr											2851
					cac His											2899
gtg Val	gat Asp 935	cct Pro	gaa Glu	gat Asp	cct Pro	gag Glu 940	aac Asn	gct Ala	gag Glu	ctc Leu	gtc Val 945	aag Lys	act Thr	ctg Leu	cct Pro	2947
					gtt Val 955											2995
ttc Phe	gac Asp	ggt Gly	gcg Ala	tca Ser 970	aac Asn	gaa Glu	gag Glu	ctc Leu	gca Ala 975	ggc ggc	ctg Leu	ctc Leu	gct Ala	aat Asn 980	tca Ser	3043
cgt Arg	cca Pro	Asn	cgc Arg 985	qzA	ggc Gly	Asp	gtc Val	Met	Val	Asn	gcg Ala	Asp	Gly	Lys	gca Ala	3091
	Leu				cgc Arg	Ser					Pro					3139
Ile					atg Met					His						3187
	His				act Thr 1035	${\tt Gly}$					Ile					3235
			Lys		cag Gln			${\tt Gly}$					Glu			3283
		Ala			gca Ala		${\tt Gly}$					Leu				3331
ctg	acc	atc	aag	tct	gat	gac	gtg	gtt	ggc	cgt	gtc	aag	gtc	tac	gaa	3379

Leu Thr Ile Lys Ser Asp Asp Val Val Gly Arg Val Lys Val Tyr Glu 1085 gca att gtg aag ggc gag aac atc ccg gat cca ggt att cct gag tcc 3427 Ala Ile Val Lys Gly Glu Asn Ile Pro Asp Pro Gly Ile Pro Glu Ser 1095 1100 3475 ttc aag gtt ctc ctc aag gag ctc cag tcc ttg tgc ctg aac gtg gag Phe Lys Val Leu Leu Lys Glu Leu Gln Ser Leu Cys Leu Asn Val Glu 1115 gtt ctc tcc gca gac ggc act cca atg gag ctc gcg ggt gac gac gac 3523 Val Leu Ser Ala Asp Gly Thr Pro Met Glu Leu Ala Gly Asp Asp Asp 1135 1130 gac ttc gat cag gca ggc gcc tca ctt ggc atc aac ctg tcc cgt gac 3571 Asp Phe Asp Gln Ala Gly Ala Ser Leu Gly Ile Asn Leu Ser Arg Asp 1150 1145 gag cgt tcc gac gcc gac acc gca tagcagatca gaaaacaacc gctagaaatc 3625 Glu Arg Ser Asp Ala Asp Thr Ala <210> 28 <211> 1165 <212> PRT <213> Corynebacterium glutamicum Val Leu Glu Gly Pro Ile Leu Ala Val Ser Arg Gln Thr Lys Ser Val Val Asp Ile Pro Gly Ala Pro Gln Arg Tyr Ser Phe Ala Lys Val Ser Ala Pro Ile Glu Val Pro Gly Leu Leu Asp Leu Gln Leu Asp Ser Tyr Ser Trp Leu Ile Gly Thr Pro Glu Trp Arg Ala Arg Gln Lys Glu Glu Phe Gly Glu Gly Ala Arg Val Thr Ser Gly Leu Glu Asn Ile Leu Glu 65 Glu Leu Ser Pro Ile Gln Asp Tyr Ser Gly Asn Met Ser Leu Ser Leu Ser Glu Pro Arg Phe Glu Asp Val Lys Asn Thr Ile Asp Glu Ala Lys Glu Lys Asp Ile Asn Tyr Ala Ala Pro Leu Tyr Val Thr Ala Glu Phe 120 Val Asn Asn Thr Thr Gly Glu Ile Lys Ser Gln Thr Val Phe Ile Gly 135 130 Asp Phe Pro Met Met Thr Asp Lys Gly Thr Phe Ile Ile Asn Gly Thr 155 150 Glu Arg Val Val Val Ser Gln Leu Val Arg Ser Pro Gly Val Tyr Phe 170 165

WO 03/040180 59 Asp Gln Thr Ile Asp Lys Ser Thr Glu Arg Pro Leu His Ala Val Lys 180 185 Val Ile Pro Ser Arg Gly Ala Trp Leu Glu Phe Asp Val Asp Lys Arg 200 Asp Ser Val Gly Val Arg Ile Asp Arg Lys Arg Arg Gln Pro Val Thr 210 215 220 Val Leu Lys Ala Leu Gly Trp Thr Thr Glu Gln Ile Thr Glu Arg 235 Phe Gly Phe Ser Glu Ile Met Met Ser Thr Leu Glu Ser Asp Gly Val 245 250 Ala Asn Thr Asp Glu Ala Leu Leu Glu Ile Tyr Arg Lys Gln Arg Pro 265 Gly Glu Gln Pro Thr Arg Asp Leu Ala Gln Ser Leu Leu Asp Asn Ser 280 Phe Phe Arg Ala Lys Arg Tyr Asp Leu Ala Arg Val Gly Arg Tyr Lys 295 Ile Asn Arg Lys Leu Gly Leu Gly Gly Asp His Asp Gly Leu Met Thr 310 315 Leu Thr Glu Glu Asp Ile Ala Thr Thr Ile Glu Tyr Leu Val Arg Leu 330 His Ala Gly Glu Arg Val Met Thr Ser Pro Asn Gly Glu Glu Ile Pro Val Glu Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Gly Asn Arg Arg Leu Arg Thr Val Gly Glu Leu Ile Gln Asn Gln Val Arg Val Gly Leu Ser Arg Met 370 Glu Arg Val Val Arg Glu Arg Met Thr Thr Gln Asp Ala Glu Ser Ile 390 395 Thr Pro Thr Ser Leu Ile Asn Val Arg Pro Val Ser Ala Ala Ile Arg 405 410 Glu Phe Phe Gly Thr Ser Gln Leu Ser Gln Phe Met Asp Gln Asn Asn 425 Ser Leu Ser Gly Leu Thr His Lys Arg Arg Leu Ser Ala Leu Gly Pro Gly Gly Leu Ser Arg Glu Arg Ala Gly Ile Glu Val Arg Asp Val His 455 Pro Ser His Tyr Gly Arg Met Cys Pro Ile Glu Thr Pro Glu Gly Pro

465 470 Asn Ile Gly Leu Ile Gly Ser Leu Ala Ser Tyr Ala Arg Val Asn Pro 490

Phe Gly Phe Ile Glu Thr Pro Tyr Arg Arg Ile Ile Asp Gly Lys Leu 500 505

Thr Asp Gln Ile Asp Tyr Leu Thr Ala Asp Glu Glu Asp Arg Phe Val

515 520 525

Val Ala Gln Ala Asn Thr His Tyr Asp Glu Glu Gly Asn Ile Thr Asp 530 535 540

Glu Thr Val Thr Val Arg Leu Lys Asp Gly Asp Ile Ala Met Val Gly 545 550 555 560

Arg Asn Ala Val Asp Tyr Met Asp Val Ser Pro Arg Gln Met Val Ser . 565 570 575

Val Gly Thr Ala Met Ile Pro Phe Leu Glu His Asp Asp Ala Asn Arg 580 585 590

Ala Leu Met Gly Ala Asn Met Gln Lys Gln Ala Val Pro Leu Ile Arg 595 600 605

Ala Glu Ala Pro Phe Val Gly Thr Gly Met Glu Gln Arg Ala Ala Tyr 610 615 620

Asp Ala Gly Asp Leu Val Ile Thr Pro Val Ala Gly Val Val Glu Asn 625 630 635 640

Val Ser Ala Asp Phe Ile Thr Ile Met Ala Asp Asp Gly Lys Arg Glu 645 650 655

Thr Tyr Leu Leu Arg Lys Phe Gln Arg Thr Asn Gln Gly Thr Ser Tyr
660 665 670

Asn Gln Lys Pro Leu Val Asn Leu Gly Glu Arg Val Glu Ala Gly Gln 675 680 685

Val Ile Ala Asp Gly Pro Gly Thr Phe Asn Gly Glu Met Ser Leu Gly 690 695 700

Arg Asn Leu Leu Val Ala Phe Met Pro Trp Glu Gly His Asn Tyr Glu 705 710 715 720

Asp Ala Ile Ile Leu Asn Gln Asn Ile Val Glu Gln Asp Ile Leu Thr 725 730 735

Ser Ile His Ile Glu Glu His Glu Ile Asp Ala Arg Asp Thr Lys Leu 740 745 . 750

Gly Ala Glu Glu Ile Thr Arg Asp Ile Pro Asn Val Ser Glu Glu Val 755 760 765

Leu Lys Asp Leu Asp Asp Arg Gly Ile Val Arg Ile Gly Ala Asp Val 770 780

Arg Asp Gly Asp Ile Leu Val Gly Lys Val Thr Pro Lys Gly Glu Thr 785 790 795 800

Glu Leu Thr Pro Glu Glu Arg Leu Leu Arg Ala Ile Phe Gly Glu Lys 805 810 815

Ala Arg Glu Val Arg Asp Thr Ser Met Lys Val Pro His Gly Glu Thr 820 825 830

Gly Lys Val Ile Gly Val Arg His Phe Ser Arg Glu Asp Asp Asp Asp 835 840 845

Leu Ala Pro Gly Val Asn Glu Met Ile Arg Ile Tyr Val Ala Gln Lys 850 855 860

Arg Lys Ile Gln Asp Gly Asp Lys Leu Ala Gly Arg His Gly Asn Lys 865 870 875 885

Gly Val Val Gly Lys Ile Leu Pro Gln Glu Asp Met Pro Phe Leu Pro 885 890 895

Asp Gly Thr Pro Val Asp Ile Ile Leu Asn Thr His Gly Val Pro Arg 900 905 910

Arg Met Asn Ile Gly Gln Val Leu Glu Thr His Leu Gly Trp Leu Ala 915 920 925

Ser Ala Gly Trp Ser Val Asp Pro Glu Asp Pro Glu Asn Ala Glu Leu 930 935 940

Val Lys Thr Leu Pro Ala Asp Leu Leu Glu Val Pro Ala Gly Ser Leu 945 950 955 960

Thr Ala Thr Pro Val Phe Asp Gly Ala Ser Asn Glu Glu Leu Ala Gly 965 970 975

Leu Leu Ala Asn Ser Arg Pro Asn Arg Asp Gly Asp Val Met Val Asn 980 985 990

Ala Asp Gly Lys Ala Thr Leu Ile Asp Gly Arg Ser Gly Glu Pro Tyr 995 1000 1005

Pro Tyr Pro Val Ser Ile Gly Tyr Met Tyr Met Leu Lys Leu His His 1010 1015 1020

Leu Val Asp Glu Lys Ile His Ala Arg Ser Thr Gly Pro Tyr Ser Met 1025 1030 1035 1040

Ile Thr Gln Gln Pro Leu Gly Gly Lys Ala Gln Phe Gly Gly Gln Arg 1045 1050 1055

Phe Gly Glu Met Glu Val Trp Ala Met Gln Ala Tyr Gly Ala Ala Tyr 1060 1065 1070

Thr Leu Gln Glu Leu Leu Thr Ile Lys Ser Asp Asp Val Val Gly Arg 1075 1080 1085

Val Lys Val Tyr Glu Ala Ile Val Lys Gly Glu Asn Ile Pro Asp Pro 1090 1095 1100

Gly Ile Pro Glu Ser Phe Lys Val Leu Leu Lys Glu Leu Gln Ser Leu 1105 1110 1115 1120

Cys Leu Asn Val Glu Val Leu Ser Ala Asp Gly Thr Pro Met Glu Leu 1125 1130 1135

Ala Gly Asp Asp Asp Phe Asp Gln Ala Gly Ala Ser Leu Gly Ile 1140 1145 1150

Asn Leu Ser Arg Asp Glu Arg Ser Asp Ala Asp Thr Ala 1155 1160 1165

<210> 29

<211> 1582

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS <222> (101)..(1552) <223> RXA01345

<400> 29 cataacctca ttgaacatgc aaaactaatg cttttggggg gtatgcataa attcgtttcg 60 ttccactgca cagcccgaaa atgctgctag ggtcaagttc atg cgt ttt gga ctt Met Arg Phe Gly Leu gac ttg gga act acc cgc aca atc gcg gcc gcc gtg gac cgc gga aac 163 Asp Leu Gly Thr Thr Arg Thr Ile Ala Ala Ala Val Asp Arg Gly Asn tat ccc atc gtc act gtg gaa gat tct tta ggc gac acc cac gat ttc 211 Tyr Pro Ile Val Thr Val Glu Asp Ser Leu Gly Asp Thr His Asp Phe att cca tct gtg gtg gcc ctc aag gca gat agg att gtc gcg ggt tgg 259 Ile Pro Ser Val Val Ala Leu Lys Ala Asp Arg Ile Val Ala Gly Trp 40 45 gat gct att gag gtt ggg cag gac cac cct tcc ttc gta cgt tct ttc 307 Asp Ala Ile Glu Val Gly Gln Asp His Pro Ser Phe Val Arg Ser Phe 55 aaa cgc cta ctc tct gaa ccc aat gtc acg gaa gcc acc ccg gtc tac 355 Lys Arg Leu Leu Ser Glu Pro Asn Val Thr Glu Ala Thr Pro Val Tyr 70 75 80 ttg ggc gat cat gta cac cct ttg ggc gcc gtc ctg gag gct ttt gcg 403 Leu Gly Asp His Val His Pro Leu Gly Ala Val Leu Glu Ala Phe Ala 90 gaa aac gtg gtc act gcg ctg cgt gca ttt cag acg caa ttg gga gat 451 Glu Asn Val Val Thr Ala Leu Arg Ala Phe Gln Thr Gln Leu Gly Asp 115 105 110 acc tcc ccg atc gaa gta gtc att ggt gtg ccc gcc aac tcc cac agc Thr Ser Pro Ile Glu Val Val Ile Gly Val Pro Ala Asn Ser His Ser 120 125 gcc cag cga ctg ctc acc atg tcc gcc ttc agc gcc aca ggc atc acc 547 Ala Gln Arg Leu Leu Thr Met Ser Ala Phe Ser Ala Thr Gly Ile Thr 135 140 595 gtt gtc ggt ttg gtc aat gag ccc agc gcc gca gct ttc gag tac acc Val Val Gly Leu Val Asn Glu Pro Ser Ala Ala Phe Glu Tyr Thr 150 cac ege cae gee ege ace tta aac tee aag ege caa gee ate gtg gtt 643 His Arg His Ala Arg Thr Leu Asn Ser Lys Arg Gln Ala Ile Val Val 170 tat gat ttg gga ggc gga aca ttc gac tcc tcg ctc atc cgc atc gac 691 Tyr Asp Leu Gly Gly Gly Thr Phe Asp Ser Ser Leu Ile Arg Ile Asp 185 190 ggc acc cac gag gtt gtg tcc tcc att ggc att tca cgc ctt ggt 739 Gly Thr His His Glu Val Val Ser Ser Ile Gly Ile Ser Arg Leu Gly 200 ggc gat gat ttc gat gaa atc ctc ctc caa tgc gcg ctc aag gcc gca

										0	•					
Gly	Asp 215	Asp	Phe	Asp	Glu	Ile 220	Leu	Leu	Gln	Cys	Ala 225	Leu	Lys	Ala	Ala	
	aga Arg															835
	gaa Glu		-			_		_						-		883
	gtt Val															931
	tac Tyr															979
	ccc Pro 295			_												1027
	tac Tyr															1075
	cgc Arg		Arg				-	-		-						1123
	tcc Ser															1171
	cac His			_	-											1219
	gat Asp 375															1267
	gat Asp					_		_	_		_	-	-			1315
	ggt Gly															1363
	ccc Pro															1411
	tcc Ser															1459
	gaa Glu 455														tcc Ser·	1507
att	tcc	atc	aag	ata	ctc	ggc	ggc	gtt	acc	gtc	gag	cac	aca	att		1552

Ile Ser Ile Lys Ile Leu Gly Gly Val Thr Val Glu His Thr Ile 470 475 480

tagttaccat tttggtgctg gtggagtcca

1582

<210> 30

<211> 484

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 30

Met Arg Phe Gly Leu Asp Leu Gly Thr Thr Arg Thr Ile Ala Ala 1 5 10 15

Val Asp Arg Gly Asn Tyr Pro Ile Val Thr Val Glu Asp Ser Leu Gly 20 25 30

Asp Thr His Asp Phe Ile Pro Ser Val Val Ala Leu Lys Ala Asp Arg

Ile Val Ala Gly Trp Asp Ala Ile Glu Val Gly Gln Asp His Pro Ser 50 55 60

Phe Val Arg Ser Phe Lys Arg Leu Leu Ser Glu Pro Asn Val Thr Glu 65 70 75 80

Ala Thr Pro Val Tyr Leu Gly Asp His Val His Pro Leu Gly Ala Val 85 90 95

Leu Glu Ala Phe Ala Glu Asn Val Val Thr Ala Leu Arg Ala Phe Gln 100 105 110

Thr Gln Leu Gly Asp Thr Ser Pro Ile Glu Val Val Ile Gly Val Pro 115 120 125

Ala Asn Ser His Ser Ala Gln Arg Leu Leu Thr Met Ser Ala Phe Ser 130 135 140

Ala Thr Gly Ile Thr Val Val Gly Leu Val Asn Glu Pro Ser Ala Ala 145 150 155 160

Ala Phe Glu Tyr Thr His Arg His Ala Arg Thr Leu Asn Ser Lys Arg 165 170 175

Gln Ala Ile Val Val Tyr Asp Leu Gly Gly Gly Thr Phe Asp Ser Ser 180 185 190

Leu Ile Arg Ile Asp Gly Thr His His Glu Val Val Ser Ser Ile Gly
195 200 205

Ile Ser Arg Leu Gly Gly Asp Asp Phe Asp Glu Ile Leu Leu Gln Cys 210 215 220

Ala Leu Lys Ala Ala Gly Arg Gln His Asp Ala Phe Gly Lys Arg Ala

Lys Asn Thr Leu Leu Asp Glu Ser Arg Asn Ala Lys Glu Ala Leu Val 245 250 255

Pro Gln Ser Arg Arg Leu Val Leu Glu Ile Gly Asp Asp Asp Ile Thr 260 265 270

Val Pro Val Asn Lys Phe Tyr Glu Ala Ala Thr Pro Leu Val Glu Lys

275 280 285

Ser Leu Ser Ile Met Glu Pro Leu Ile Gly Val Asp Asp Leu Lys Asp 290 295 300

Ser Asp Ile Ala Gly Ile Tyr Leu Val Gly Gly Gly Ser Ser Leu Pro 305 310 315 320

Leu Val Ser Arg Leu Leu Arg Glu Arg Phe Gly Arg Arg Val His Arg 325 330 335

Ser Pro Phe Pro Ser Gly Ser Thr Ala Val Gly Leu Ala Ile Ala Ala 340 345 350

Asp Pro Ser Ser Gly Phe His Leu Arg Asp Arg Val Ala Arg Gly Ile 355 360 365

Gly Val Phe Arg Glu His Asp Ser Gly Arg Ala Val Ser Phe Asp Pro 370 375 380

Leu Ile Ala Pro Asp Thr Asp Ser Ala Thr Val Ala Lys Arg Cys Tyr 385 390 395 400

Lys Ala Val His Asn Ile Gly Trp Phe Arg Phe Val Glu Tyr Ser Thr 405 410 415

Val Ser Glu Asp Gly Ser Pro Gly Asp Ile Ser Leu Leu Ser Glu Ile 420 425 430

Lys Ile Pro Phe Asp Ser Ser Ile Thr Asp Val Asp Ala Thr Glu Ile 435 440 445

Ser Arg Phe Asp Gly Pro Glu Val Glu Glu Thr Ile Thr Val Asn Asp 450 460

Asn Gly Val Ala Ser Ile Ser Ile Lys Ile Leu Gly Gly Val Thr. Val 465 470 475 480

Glu His Thr Ile

<210> 31

<211> 1123

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(1093)

<223> RXA01404

<220>

<221> unsure

<222> 12 .. 12

<223> All occurrences of n indicate any nucleotide

<400> 31

qtggatccgg tnttgtgatc cactacgcaa ttggagcgct ccaacacaag ctatatttgt 60

ttaaatgtcc tgtcaatagt tcaagagaaa atcacagaag atg agc aca tcc cgc 115

Met Ser Thr Ser Arg

1 5

ccc aca att tat gac gtc gcc aaa gcc gca ggc gtc tcc aaa tcc ttg 163

Pro	Thr	I1e	Tyr	Asp 10	Va1	Ala	Lys	A1a	Ala 15	Gly	Val	Ser	Lys	Ser 20	Leu	
												aaa Lys			gaa G1u	211
												cag Gln 50				259
-	_		_			_	_	_	_	_		att I1e	-			307
												att I1e				355
_	_					_			_	_		gtc Va1		_		403
				-							_	gca A1a			_	451
												gat Asp 130				499
												aga Arg				547
_	_			_			-		-	-		cgg Arg		_	•	59 5
					Leu		Asp	Leu	Gly	His		cac His		-		643
												gaa Glu				691
_		_	-			-	_	_	_			aac Asn 210	_			739
												ctc Leu				787
												aac Asn				835
												tta Leu				883
gaa	gat	cta	tca	ata	atc	gga	tat	gac	aac	act	ccc	ctc	gcc	caa	acc	931

Glu Asp Leu Ser Ile Ile Gly Tyr Asp Asn Thr Pro Leu Ala Gln Thr 270 265 cga ctg atc aac ctc acc acc atc gac gac aac agc atc ggc gtc ggc Arg Leu Ile Asn Leu Thr Thr Ile Asp Asp Asn Ser Ile Gly Val Gly 280 285 tac aac gcc gct ctc ttg ttg ctg agc atg ctt gat ccc gag gca ccc 1027 Tyr Asn Ala Ala Leu Leu Leu Ser Met Leu Asp Pro Glu Ala Pro 300 295 cac ccg gag atc atg cat acg ttg cag ccc tcg ctg att gaa cgg ggc 1075 His Pro Glu Ile Met His Thr Leu Gln Pro Ser Leu Ile Glu Arg Gly 325 315 1123 acg tgc gcg cca cgt gga tagctacccc aaatacttgg acttcctaat Thr Cys Ala Pro Arg Gly <210> 32 <211> 331 <212> PRT <213> Corynebacterium glutamicum <400> 32 Met Ser Thr Ser Arg Pro Thr Ile Tyr Asp Val Ala Lys Ala Ala Gly Val Ser Lys Ser Leu Val Ser Leu Val Leu Arg Gly Ser Pro Asn Val 25 Ser Lys Glu Ser Glu Ala Ala Val Lys Thr Ala Ile Lys Lys Leu Asn Tyr Gln Pro Asn Arg Ala Ala Ser Asp Leu Ala Ala Lys Arg Thr Gln 50 55 Leu Ile Ala Val Leu Ile Asp Asp Tyr Ser Asn Pro Trp Phe Ile Asp 70 Leu Ile Gln Ser Leu Ser Asp Val Leu Thr Pro Lys Gly Tyr Arg Leu Ser Val Ile Asp Ser Leu Thr Ser Gln Ala Gly Thr Asp Pro Ile Thr 105 Ser Ala Leu Ser Met Arg Pro Asp Gly Ile Ile Ile Ala Gln Asp Ile 120 115 Pro Asp Phe Thr Val Pro Asp Ser Leu Pro Pro Phe Val Ile Ala Gly Thr Arg Ile Thr Gln Ala Ser Thr His Asp Ser Val Ala Asn Asp Asp 150 Phe Arg Gly Ala Glu Ile Ala Thr Lys His Leu Ile Asp Leu Gly His 170 Thr His Ile Ala His Leu Arg Val Gly Ser Gly Ala Gly Leu Arg Arg 190 185 180 Phe Glu Ser Phe Glu Ala Thr Met Arg Ala His Gly Leu Glu Pro Leu

WO 03/040180 PCT/EP02/12138

68 205 195 200 Ser Asn Asp Tyr Leu Gly Pro Ala Val Glu His Ala Gly Tyr Thr Glu 210 Thr Leu Ala Leu Leu Lys Glu His Pro Glu Val Thr Ala Ile Phe Ser 235 Ser Asn Asp Ile Thr Ala Ile Gly Ala Leu Gly Ala Ala Arg Glu Leu 245 Gly Leu Arg Val Pro Glu Asp Leu Ser Ile Ile Gly Tyr Asp Asn Thr 265 Pro Leu Ala Gln Thr Arg Leu Ile Asn Leu Thr Thr Ile Asp Asp Asn 275 Ser Ile Gly Val Gly Tyr Asn Ala Ala Leu Leu Leu Ser Met Leu 295 Asp Pro Glu Ala Pro His Pro Glu Ile Met His Thr Leu Gln Pro Ser 310 305 Leu Ile Glu Arg Gly Thr Cys Ala Pro Arg Gly 325 <210> 33 <211> 502 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(472) <223> RXA01431 <400> 33 caccgcagct ggttccggtt gccgcgcagc gatcgatgca gagcattacc tagcttctct 60 ggcctaattc acagttagcc ttaaaccaaa ccatgtacca atg aat gtc gga ttc Met Asn Val Gly Phe 163 ccc agg agt ccc gtc att gtt aat tta gga gaa acc atg agc aat gtt Pro Arg Ser Pro Val Ile Val Asn Leu Gly Glu Thr Met Ser Asn Val 15 10 gtt gca gta acc gag cag acc ttc aag tcc acc gtc atc gat tcc gac 211 Val Ala Val Thr Glu Gln Thr Phe Lys Ser Thr Val Ile Asp Ser Asp 25 30 aag cca gtc atc gtt gac ttc tgg gca gaa tgg tgt ggc ccc tgc aag 259 Lys Pro Val Ile Val Asp Phe Trp Ala Glu Trp Cys Gly Pro Cys Lys 40 307 aag ctc agc ccc atc att gag gaa atc gca ggc gag tac ggc gac aag Lys Leu Ser Pro Ile Ile Glu Glu Ile Ala Gly Glu Tyr Gly Asp Lys 55 60

gca gtc gtt gcc agc gtc gac gtc gat gca gag cgt acc ttg ggt gcc

Ala Val Val Ala Ser Val Asp Val Asp Ala Glu Arg Thr Leu Gly Ala

75

70

355

atg ttc cag att atg tcg att cct tct gtt ctc att ttc aaa aat ggt 403 Met Phe Gln Ile Met Ser Ile Pro Ser Val Leu Ile Phe Lys Asn Gly gca aaa gtc gag gaa ttt gtc ggt ctg cgc ccc aag aac gaa att gtg 451 Ala Lys Val Glu Glu Phe Val Gly Leu Arg Pro Lys Asn Glu Ile Val 105 110 gaa aaa cta gag aag cac ctc tagctggtat tcttactgca gtcacgtgga 502 Glu Lys Leu Glu Lys His Leu 120 <210> 34 <211> 124 <212> PRT <213> Corynebacterium glutamicum <400> 34 Met Asn Val Gly Phe Pro Arg Ser Pro Val Ile Val Asn Leu Gly Glu 5 Thr Met Ser Asn Val Val Ala Val Thr Glu Gln Thr Phe Lys Ser Thr 25 Val Ile Asp Ser Asp Lys Pro Val Ile Val Asp Phe Trp Ala Glu Trp Cys Gly Pro Cys Lys Lys Leu Ser Pro Ile Ile Glu Glu Ile Ala Gly Glu Tyr Gly Asp Lys Ala Val Val Ala Ser Val Asp Val Asp Ala Glu Arg Thr Leu Gly Ala Met Phe Gln Ile Met Ser Ile Pro Ser Val Leu Ile Phe Lys Asn Gly Ala Lys Val Glu Glu Phe Val Gly Leu Arg Pro 105 Lys Asn Glu Ile Val Glu Lys Leu Glu Lys His Leu 120 115 <210> 35 <211> 1495 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(1465) <223> RXA01438 <400> 35 ccattagcag tcgcaccccg ataggagtcg aatctacaag tggaaccccc gctcacatac 60 tccacatttt ttagaacccc tttaaggaat cgaactttat atg tct cgc cct ttg Met Ser Arg Pro Leu 1

cgt gtt gcc gtt gtc ggt gca ggt cca gca gga atc tac gcg tct gat

										, 0						
Arg	Val	Ala	Val	Val 10	Gly	Ala	Gly	Pro	Ala 15	Gly	Ile	Tyr	Ala	Ser 20	Asp	
ttg Leu	ttg Leu	atg Met	aaa Lys 25	tcc Ser	gac Asp	acg Thr	gac Asp	gtg Val 30	cag Gln	att Ile	gat Asp	ctt Leu	ttt Phe 35	gaa Glu	cgt Arg	211
				ttc Phe												259
				Gly ggc												307
				ttc Phe												355
				cgt Arg 90												403
				cag Gln												451
_			-	Gly ggc			_									499
				tgg Trp												547
				gcg Ala												595
				gtt Val 170	Thr			Pro		Asn						643
				gct Ala												691
				ttc Phe												739
				gtg Val												787
_	_	_		gct Ala	_	_	_				_	_				835
				agc Ser 250												883
aag	ctg	ttc	att	cac	ttc	ttt	gag	tcc	cca	gtg	gag	atc	ctc	ggt	gag	931

	,,,	00,010	3100							, 1	•				10	1/121 02/1
Lys	Leu	Phe	11e 265	His	Phe	Phe	Glu	Ser 270	Pro	Val	Glu	Ile	Leu 275	Gly	Glu	
gac Asp	ggc Gly	aag Lys 280	gtt Val	gtt Val	Gly ggc	ctc Leu	aag Lys 285	act Thr	gag Glu	cgt Arg	act Thr	cag Gln 290	ctg Leu	gac Asp	ggc Gly	979
aac Asn	ggt Gly 295	ggc Gly	gtg Val	act Thr	ggc Gly	acc Thr 300	ggc Gly	gag Glu	ttc Phe	aag Lys	acc Thr 305	tgg Trp	gat Asp	atg Met	cag Gln	1027
								cgt Arg								1075
cct Pro	t t t Phe	gac Asp	gat Asp	gag Glu 330	cgc Arg	gcg Ala	gtt Val	gtc Val	ccc Pro 335	aac Asn	gac Asp	ggc Gly	ggc Gly	cac His 340	atc Ile	1123
								atc Ile 350								1171
tgg Trp	atc Ile	aag Lys 360	cgt Arg	ggc Gly	cca Pro	att Ile	gga Gly 365	ctg Leu	atc Ile	ggc Gly	aac Asn	acc Thr 370	aag Lys	tcc Ser	gac Asp	1219
								ctt Leu								1267
ttg Leu 390	cct Pro	gcg Ala	cct Pro	gca Ala	aag Lys 395	cct Pro	gag Glu	ttg Leu	gag Glu	tcc Ser 400	atc Ile	att Ile	gag Glu	ttc Phe	ctc Leu 405	1315
								aca Thr								1363
gat Asp	gct Ala	gcg Ala	gag Glu 425	cgc Arg	gcg Ala	ctg Leu	ggt Gly	gag Glu 430	cct Pro	gag Glu	ggc Gly	cgc Arg	gag Glu 435	cgc Arg	aag Lys	1411
aag Lys	atc Ile	gtt Val 440	gag Glu	tgg Trp	aat Asn	gac Asp	atg Met 445	gtg Val	cgc Arg	cat His	gct Ala	cgt Arg 450	cca Pro	gaa Glu	tac Tyr	1459
gac Asp		taaa	agtc	get (caaag	gccto	ca aa	aaaag	gggcg	Ŧ						1495
<211)> 36 .> 45 !> PE	55	- -			 		n								

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 36

Met Ser Arg Pro Leu Arg Val Ala Val Val Gly Ala Gly Pro Ala Gly 1 5 10 15

Ile Tyr Ala Ser Asp Leu Leu Met Lys Ser Asp Thr Asp Val Gln Ile

72 30 25 20 Asp Leu Phe Glu Arg Met Pro Ala Pro Phe Gly Leu Ile Arg Tyr Gly Val Ala Pro Asp His Pro Arg Ile Lys Gly Ile Val Lys Ser Leu His Asn Val Met Asp Lys Glu Gln Leu Arg Phe Leu Gly Asn Ile Glu Val 70 75 Gly Lys Asp Ile Thr Val Glu Glu Leu Arg Glu Phe Tyr Asp Ala Ile Val Phe Ser Thr Gly Ala Thr Gly Asp Gln Asp Leu Arg Val Pro Gly 105 100 Ser Asp Leu Glu Gly Ser Trp Gly Ala Gly Glu Phe Val Gly Phe Tyr 120 Asp Gly Asn Pro Asn Phe Glu Arg Asn Trp Asp Leu Ser Ala Glu Lys 130 135 Val Ala Val Val Gly Val Gly Asn Val Ala Leu Asp Val Ala Arg Ile 150 155 Leu Ala Lys Thr Gly Asp Glu Leu Leu Val Thr Glu Ile Pro Asp Asn 165 Val Tyr Glu Ser Leu Ala Lys Asn Gln Ala Lys Glu Val His Val Phe 185 Gly Arg Arg Gly Pro Ala Gln Ala Lys Phe Thr Pro Leu Glu Leu Lys Glu Leu Asp His Ser Asp Thr Ile Glu Val Ile Val Asn Pro Glu Asp Ile Asp Tyr Asp Ala Ala Ser Glu Gln Ala Arg Arg Asp Ser Lys Ser 235 225 Gln Asp Leu Val Cys Gln Thr Leu Glu Ser Tyr Ala Met Arg Asp Pro 250 Lys Gly Ala Pro His Lys Leu Phe Ile His Phe Phe Glu Ser Pro Val 265 Glu Ile Leu Gly Glu Asp Gly Lys Val Val Gly Leu Lys Thr Glu Arg 280 Thr Gln Leu Asp Gly Asn Gly Gly Val Thr Gly Thr Gly Glu Phe Lys 290 295 Thr Trp Asp Met Gln Ser Val Tyr Arg Ala Val Gly Tyr Arg Ser Asp 315 310 Ala Ile Glu Gly Val Pro Phe Asp Asp Glu Arg Ala Val Val Pro Asn 325 Asp Gly Gly His Ile Ile Asp Pro Glu Val Gly Ser Pro Ile Thr Gly 345

Leu Tyr Ala Thr Gly Trp Ile Lys Arg Gly Pro Ile Gly Leu Ile Gly 360

Asn Thr Lys Ser Asp Ala Lys Glu Thr Thr Glu Met Leu Leu Ala Asp 375 His Ala Ala Gly Ser Leu Pro Ala Pro Ala Lys Pro Glu Leu Glu Ser 390 395 Ile Ile Glu Phe Leu Asp Glu Arg Lys Val Ala Phe Thr Trp Asp 410 Gly Trp His Leu Leu Asp Ala Ala Glu Arg Ala Leu Gly Glu Pro Glu 425 Gly Arg Glu Arg Lys Lys Ile Val Glu Trp Asn Asp Met Val Arg His 440 Ala Arg Pro Glu Tyr Asp Ile 450 <210> 37 <211> 1021 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(991) <223> RXA01490 <400> 37 cacaccaatg gtgactactg atccttgaag atcagccgga acgctgtcta gtccactcca 60 aatatccact gttttagact acggcataga ctcaacagac atg aat gct cct gcc Met Asn Ala Pro Ala cct aaa cct gga ctc gtg atc gtc gac aag ccc gcc gga atg aca tcc 163 Pro Lys Pro Gly Leu Val Ile Val Asp Lys Pro Ala Gly Met Thr Ser cat gac gtg gtg tcc aaa ttg cgc cgc gca ttt tcc acc cgc aaa gta 211 His Asp Val Val Ser Lys Leu Arg Arg Ala Phe Ser Thr Arg Lys Val 30 ggc cac gca ggc acc ctc gac ccc atg gca acc ggc gtg tta gtc gtc 259 Gly His Ala Gly Thr Leu Asp Pro Met Ala Thr Gly Val Leu Val Val gga att gag cgc gga acc cgc ttc ctg gca cac atg gtg gcc tcc acc 307 Gly Ile Glu Arg Gly Thr Arg Phe Leu Ala His Met Val Ala Ser Thr aaa gcc tac gac gcc acc att cga ctc ggc gcc gcc acc agc acc gat 355 Lys Ala Tyr Asp Ala Thr Ile Arg Leu Gly Ala Ala Thr Ser Thr Asp 70 75 gat gca gaa ggc gag gtt atc tcc aca aca gac gca tcc ggc ctc gac 403 Asp Ala Glu Gly Glu Val Ile Ser Thr Thr Asp Ala Ser Gly Leu Asp 90 95 100 cac agc acc atc ctt gct gaa atc gtc aac ctc acc ggc gac atc atg 451 His Ser Thr Ile Leu Ala Glu Ile Val Asn Leu Thr Gly Asp Ile Met 105 110 115

		ccc Pro 120														499
		cgc Arg	_													547
_		gtc Val	_	-		_			_				_		_	595
		gac Asp		-		_	_		_							643
_		ctc Leu	_	_	_				-	_	_	_				691
-		gcg Ala 200			_			-				_			_	739
		ccc Pro														787
	_	cag Gln	_							_						835
		ggc Gly														883
_		ggc Gly	_		-	-	-						-			931
		gaa Glu 280														979
ccc Pro		act Thr		tagt	tggt	ct g	rccag	aago	c ga	ittta	ıagag	ſ		•		1021
<210 <211 <212 <213	> PR	7 T	bact	eriu	ım gl	utam	nicum	ı								
<400 Met 1			Pro	Ala 5	Pro	Lys	Pro	Gly	Leu 10	Val	Ile	Val	Asp	Lys 15	Pro	
77-	~1-r	76 a +	mlass	0	TT2 -	3 ~~	₹7~ T	77~ T	Coss	T	т	70	7	77 -	T31	

Ala Gly Met Thr Ser His Asp Val Val Ser Lys Leu Arg Arg Ala Phe 20 25 30

Ser Thr Arg Lys Val Gly His Ala Gly Thr Leu Asp Pro Met Ala Thr

35 40 45

Gly Val Leu Val Val Gly Ile Glu Arg Gly Thr Arg Phe Leu Ala His 50 55 60

Met Val Ala Ser Thr Lys Ala Tyr Asp Ala Thr Ile Arg Leu Gly Ala 65 70 75 80

Ala Thr Ser Thr Asp Asp Ala Glu Gly Glu Val Ile Ser Thr Thr Asp 85 90 95

Ala Ser Gly Leu Asp His Ser Thr Ile Leu Ala Glu Ile Val Asn Leu 100 105 110

Thr Gly Asp Ile Met Gln Lys Pro Thr Lys Val Ser Ala Ile Lys Ile 115 120 125

Asp Gly Lys Arg Ala His Glu Arg Val Arg Asp Gly Glu Glu Val Asp 130 135 140

Ile Pro Ala Arg Pro Val Thr Val Ser Val Phe Asp Val Leu Asp Tyr 145 150 155 160

His Val Asp Gly Glu Phe Tyr Asp Leu Asp Val Arg Val His Cys Ser 165 170 175

Ser Gly Thr Tyr Ile Arg Ala Leu Ala Arg Asp Leu Gly Asn Ala Leu 180 185 190

Gln Val Gly Gly His Leu Thr Ala Leu Arg Arg Thr Glu Val Gly Pro 195 200 205

Phe Thr Leu Asn Asp Ala Thr Pro Leu Ser Lys Leu Gln Glu Asn Pro 210 215 220

Glu Leu Ser Leu Asn Leu Asp Gln Ala Leu Thr Arg Ser Tyr Pro Val 225 230 235 240

Leu Asp Ile Thr Glu Asp Glu Gly Val Asp Leu Ser Met Gly Lys Trp 245 250 255

Leu Glu Pro Arg Gly Leu Lys Gly Val His Ala Ala Val Thr Pro Ser 260 265 270

Gly Lys Ala Val Ala Leu Ile Glu Glu Lys Gly Lys Arg Leu Ala Thr 275 280 285

Val Phe Val Ala His Pro Asn Thr Leu 290 295

<210> 39

<211> 1441

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(1411)

<223> RXA01493

<400> 39

cctgctgcag gctataccgc tcgtggtacg gaaatcgaag ccctcgatac gttgattgaa 60

gcaaccgtta ccttggggga gtctttgcga agctcggcgc atg tcg atg tct aac 115

WO 03/040180 76 PCT/EP02/12138

											Met 1	Ser	Meț	Ser	Asn 5	
aac Asn	gac Asp	ttt Phe	gag Glu	cat His 10	gag Glu	tcc Ser	cat His	gat Asp	gtt Val 15	tct Ser	gca Ala	aag Lys	cag Gln	atc Ile 20	ttc Phe	163
ggg Gly	ctc Leu	gcg Ala	ttc Phe 25	ccc Pro	gca Ala	ctg Leu	ggt Gly	gtt Val 30	cta Leu	gct Ala	gcg Ala	atg Met	ccg Pro 35	ctg Leu	tat Tyr	211
ctc Leu	ttg Leu	ttg Leu 40	gat Asp	aca Thr	gcg Ala	gtt Val	gtt Val 45	ggc Gly	act Thr	ttg Leu	ggt Gly	ggc Gly 50	ttc Phe	gaa Glu	ttg Leu	259
gct Ala	gcg Ala 55	ttg Leu	ggc Gly	gca Ala	gca Ala	aca Thr 60	aca Thr	att Ile	caa Gln	gct Ala	caa Gln 65	gtg Val	aca Thr	aca Thr	cag Gln	307
ctg Leu 70	aca Thr	ttc Phe	ttg Leu	tcc Ser	tat Tyr 75	gga Gly	act Thr	acc Thr	gcg Ala	aga Arg 80	tca Ser	tcg Ser	aga Arg	att Ile	ttc Phe 85	355
gga Gly	atg Met	ggt Gly	gat Asp	cgc Arg 90	cgg Arg	gga Gly	gca Ala	att Ile	gcc Ala 95	gaa Glu	ggt Gly	gtg Val	caa Gln	gca Ala 100	acc Thr	403
tgg Trp	gtg Val	gca Ala	ctc Leu 105	ttt Phe	gta Val	ggc Gly	ttg Leu	ggc Gly 110	atc Ile	tta Leu	acg Thr	ctg Leu	atg Met 115	ctc Leu	att Ile	451
gga Gly	gcc Ala	ccg Pro 120	act Thr	ttc Phe	gcg Ala	ttg Leu	tgg Trp 125	ctc Leu	agt Ser	ggt Gly	gat Asp	gaa Glu 130	gct Ala	cta Leu	gcc Ala	499
caa Gln	gaa Glu 135	gca Ala	ggg Gly	cat His	tgg Trp	ctc Leu 140	cgg Arg	gtc Val	gct Ala	gct Ala	ttt Phe 145	gcg Ala	gtg Val	cca Pro	cta Leu	547
att Ile 150	ctc Leu	atg Met	atc Ile	atg Met	gct Ala 155	ggc Gly	aac Asn	ggt Gly	tgg Trp	tta Leu 160	aga Arg	ggt Gly	att Ile	caa Gln	aac Asn 165	595
acc Thr	aag Lys	ctg Leu	cca Pro	ctc Leu 170	tat Tyr	ttc Phe	acc Thr	ttg Leu	gcg Ala 175	gga Gly	gtc Val	atc Ile	ccc Pro	ggc Gly 180	gcg Ala	643
atc Ile	ttg Leu	att Ile	ccg Pro 185	ata Ile	ttc Phe	gtg Val	gct Ala	aag Lys 190	ttt Phe	gga Gly	ctt Leu	gtg Val	ggc Gly 195	tct Ser	gcc Ala	691
tgg Trp	gca Ala	aac Asn 200	ctc Leu	att Ile	gca Ala	gaa Glu	gca Ala 205	att Ile	act Thr	gct Ala	tcg Ser	ctg Leu 210	ttt Phe	ttg Leu	ggt Gly	739
gca Ala	ttg Leu 215	atc Ile	aag Lys	cac His	cac His	gaa Glu 220	ggt Gly	tcg Ser	tgg Trp	aag Lys	ccg Pro 225	agc Ser	tgg Trp	acg Thr	gtg Val	787
atg Met 230	aaa Lys	aat Asn	cag Gln	ttg Leu	gtt Val 235	ctt Leu	gga Gly	cgt Arg	gat Asp	ttg Leu 240	atc Ile	atg Met	cgg Arg	tca Ser	atg Met 245	835
tcg	ttc	cag	gtt	gct	ttt	ctt	tcc	gcg	gcc	gct	gtg	gct	gca	cga	ttt	883

										, ,	'					
Ser	Phe	Gln	Val	Ala 250	Phe	Leu	Ser	Ala	Ala 255	Ala	Val	Ala	Ala	Arg 260	Phe	
	acg Thr											_				931
	atc Ile														tta Leu	979
	ggt Gly 295															1027
	aat Asn															1075
	gtg Val															1123
	gcc Ala															1171
	atg Met															1219
	ggt Gly 375															1267
	gtg Val															1315
	Gly aaa															1363
	cta Leu															1411
tagettegge gegtggcaaa ceacatttge 1441														1441		
<211 <212	<210> 40 <211> 437 <212> PRT <213> Corynebacterium glutamicum															

<400> 40

Met Ser Met Ser Asn Asn Asp Phe Glu His Glu Ser His Asp Val Ser 10

Ala Lys Gln Ile Phe Gly Leu Ala Phe Pro Ala Leu Gly Val Leu Ala 20 30

Ala Met Pro Leu Tyr Leu Leu Leu Asp Thr Ala Val Val Gly Thr Leu

35 40 45

Gly Gly Phe Glu Leu Ala Ala Leu Gly Ala Ala Thr Thr Ile Gln Ala 50 55 60

Gln Val Thr Thr Gln Leu Thr Phe Leu Ser Tyr Gly Thr Thr Ala Arg
65 70 75 80

Ser Ser Arg Ile Phe Gly Met Gly Asp Arg Arg Gly Ala Ile Ala Glu 85 90 95

Gly Val Gln Ala Thr Trp Val Ala Leu Phe Val Gly Leu Gly Ile Leu 100 105 110

Thr Leu Met Leu Ile Gly Ala Pro Thr Phe Ala Leu Trp Leu Ser Gly 115 120 125

Asp Glu Ala Leu Ala Gln Glu Ala Gly His Trp Leu Arg Val Ala Ala 130 135 140

Phe Ala Val Pro Leu Ile Leu Met Ile Met Ala Gly Asn Gly Trp Leu 145 150 155 160

Arg Gly Ile Gln Asn Thr Lys Leu Pro Leu Tyr Phe Thr Leu Ala Gly
165 170 175

Val Ile Pro Gly Ala Ile Leu Ile Pro Ile Phe Val Ala Lys Phe Gly 180 185 190

Leu Val Gly Ser Ala Trp Ala Asn Leu Ile Ala Glu Ala Ile Thr Ala 195 200 205

Ser Leu Phe Leu Gly Ala Leu Ile Lys His His Glu Gly Ser Trp Lys 210 215 220

Pro Ser Trp Thr Val Met Lys Asn Gln Leu Val Leu Gly Arg Asp Leu 225 230 235 240

Ile Met Arg Ser Met Ser Phe Gln Val Ala Phe Leu Ser Ala Ala Ala 245 250 255

Val Ala Ala Arg Phe Gly Thr Ala Ser Leu Ala Ala His Gln Val Leu 260 265 270

Leu Gln Leu Trp Asn Phe Ile Thr Leu Val Leu Asp Ser Leu Ala Ile 275 280 285

Ala Ala Gln Thr Leu Thr Gly Ala Ala Leu Gly Ala Gly Thr Ala Lys 290 295 300

Val Ala Arg Arg Val Gly Asn Gln Val Ile Lys Tyr Ser Leu Ile Phe 305 310 315 320

Ala Gly Gly Leu Gly Leu Val Phe Val Val Leu His Ser Trp Ile Pro 325 330 335

Arg Ile Phe Thr Gln Asp Ala Asp Val Leu Asp Ala Ile Ala Ser Pro 340 345 350

Trp Trp Ile Met Val Ala Met Ile Ile Leu Gly Gly Ile Val Phe Ala 355 360 365

Ile Asp Gly Val Leu Leu Gly Ala Ala Asp Ala Val Phe Leu Arg Asn 370 375 380

Ala Ser Ile Leu Ala Val Val Gly Phe Leu Pro Gly Val Trp Ile 385 390 395 Ser Tyr Ala Leu Asp Ala Gly Leu Thr Gly Val Trp Cys Gly Leu Leu 410 Ala Phe Ile Leu Ile Arg Leu Phe Ala Val Ile Trp Arg Phe Lys Ser 420 425 Met Lys Trp Ala Arg 435 <210> 41 <211> 2056 <212> DNA ' <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(2026) <223> RXA01559 <400> 41 ctttctcgct cgtgtcgcac tcacccacgc cacctggcgt gggtgagtgg cgcatggagt 60 gggtgggcgt cgacaagcgt ggttgtctgg ttgattggaa ttg aag gag act ttc 115 Leu Lys Glu Thr Phe ttg gct cgg caa aaa aag agt gcc gct agc gcc tgg gaa cga tgg cca 163 Leu Ala Arg Gln Lys Lys Ser Ala Ala Ser Ala Trp Glu Arg Trp Pro 10 aaa cgc gca ata gcg ttg ttt gtg ctc atc gtc gtt ggt gtt tat gcg 211 Lys Arg Ala Ile Ala Leu Phe Val Leu Ile Val Val Gly Val Tyr Ala ttg gtg ctg ttg aca ggc gat cgt tct gcc aca cca aaa ttg ggt att 259 Leu Val Leu Leu Thr Gly Asp Arg Ser Ala Thr Pro Lys Leu Gly Ile 40 45 gat ctg caa ggc gga acc cga gtg acc ctc gtg ccg cag ggg cag gat 307 Asp Leu Gln Gly Gly Thr Arg Val Thr Leu Val Pro Gln Gly Gln Asp 55 60 cca act cag gac cag ctg aat cag gca cgc acc att ctg gaa aac cgt 355 Pro Thr Gln Asp Gln Leu Asn Gln Ala Arg Thr Ile Leu Glu Asn Arg 70 75 80 gtg aac ggc atg ggc gtt tca ggt gca agc gtg gtc gct gac ggt aac 403 Val Asn Gly Met Gly Val Ser Gly Ala Ser Val Val Ala Asp Gly Asn 90 100 acg ctg gtg atc act gtt ccc ggg gaa aat acc gca cag gcg caa tcc 451 Thr Leu Val Ile Thr Val Pro Gly Glu Asn Thr Ala Gln Ala Gln Ser 105 cta gga cag acc tcc cag ctg ctg ttc cgt ccc gtt ggt cag gca gga 499 Leu Gly Gln Thr Ser Gln Leu Leu Phe Arg Pro Val Gly Gln Ala Gly 120 atg ccc gat atg acc acg ttg atg cca gag ctg gaa gag atg gcc aac

Met	Pro 135	Asp	Met	Thr	Thr	Leu 140	Met	Pro	Glu	Leu	Glu 145	Glu	Met	Ala	Asn	
agg Arg 150	tgg Trp	gtt Val	gaa Glu	tac Tyr	ggc Gly 155	gtc Val	atc Ile	acc Thr	gaa Glu	gag Glu 160	cag Gln	gca Ala	aat Asn	gcc Ala	tcc Ser 165	595
ttg Leu	gag Glu	gaa Glu	atg Met	aac Asn 170	acc Thr	gct Ala	gtt Val	gca Ala	tcg Ser 175	acc Thr	act Thr	gcg Ala	gtg Val	gaa Glu 180	Gly	643
				gag Glu												691
				aac Asn												739
				cgc Arg												787
atc Ile 230	gct Ala	gca Ala	agt Ser	tct Ser	ttg Leu 235	atg Met	cag Gln	tgc Cys	acc Thr	act Thr 240	gat Asp	gag Glu	atg Met	gat Asp	cct Pro 245	835
				gat Asp 250												883
gct Ala	gta Val	ggt Gly	ggc Gly 265	gtg Val	tat Tyr	gta Val	ctt Leu	gat Asp 270	cct Pro	gca Ala	cct Pro	ttg Leu	ctc Leu 275	aac Asn	Gly ggc	931
gaa Glu	acc Thr	gat Asp 280	gag Glu	gaa Glu	aat Asn	ggt Gly	gcg Ala 285	cgc Arg	cta Leu	acc Thr	ggt Gly	aat Asn 290	gag Glu	atc Ile	gat Asp	979
acc Thr	aac Asn 295	Arg	Pro	atc Ile	Thr	Gly	Gly	Phe	Asn	Ala	cag Gln 305	tcc Ser	ggc Gly	cag Gln	atg Met	1027
				gcc Ala												1075
				ctg Leu 330												1123
acc Thr	ctg Leu	gac Asp	tct Ser 345	cag Gln	gtg Val	att Ile	tct Ser	gca Ala 350	ccc Pro	gtg Val	att Ile	cag Gln	tca Ser 355	gca Ala	acc Thr	1171
cct Pro	gtg Val	ggt Gly 360	tct Ser	gca Ala	aca Thr	tcc Ser	atc Ile 365	acc Thr	ggt Gly	gac Asp	ttc Phe	act Thr 370	caa Gln	act Thr	gaa Glu	1219
				gcg Ala												1267
ttc	gca	ggt	gaa	aac	ggc	gag	cgc	ggc	gga	act	acc	acc	acc	gtt	ccg	1315

			0100							01						
Phe 390	Ala	Gly	Glu	Asn	Gly 395	Glu	Arg	Gly	Gly	Thr 400	Thr	Thr	Thr	Val	Pro 405	
cca Pro	tca Ser	cta Leu	ggc Gly	gca Ala 410	gca Ala	tcc Ser	ttg Leu	aag Lys	gcc Ala 415	gga Gly	ctg Leu	atc Ile	gca Ala	ggc Gly 420	atc Ile	1363
	ggc Gly															1411
	gga Gly															1459
	ggc Gly 455															1507
	gct Ala															1555
	ttc Phe															1603
	tcc Ser															1651
	atc Ile															1699
tac Tyr	ttg Leu 535	ctc Leu	gcg Ala	gtc Val	ggc Gly	gaa Glu 540	gtc Val	aag Lys	ggc Gly	ttt Phe	gcc Ala 545	ttc Phe	acc Thr	ctg Leu	ggt Gly	1747
ctg Leu 550	acc Thr	Thr	Va1	Phe	Asp	Leu	Val	gtc Val	Thr	ttc Phe 560	Leu	atc Ile	acg Thr	gca Ala	cca Pro 565	1795
ctg Leu	gtt Val	atc Ile	ctg Leu	gca Ala 570	tca Ser	cgc Arg	aac Asn	cca Pro	ttc Phe 575	ttt Phe	gcc Ala	aag Lys	tca Ser	tcg Ser 580	gtc Val	1843
aac Asn	ggc Gly	atg Met	gga Gly 585	cga Arg	gtg Val	atg Met	aag Lys	ctc Leu 590	gtt Val	gaa Glu	gaa Glu	cgc Arg	cgc Arg 595	gcc Ala	aac Asn	1891
ggt Gly	gaa Glu	ttg Leu 600	gat Asp	gag Glu	cct Pro	gag Glu	tac Tyr 605	ctg Leu	aaa Lys	aag Lys	atc Ile	cat His 610	gcc Ala	aag Lys	aat Asn	1939
gcg Ala	gca Ala 615	gct Ala	gat Asp	aag Lys	gct Ala	tcc Ser 620	act Thr	gac Asp	aat Asn	tct Ser	tcc Ser 625	act Thr	gac Asp	aat Asn	tct Ser	1987
	gca Ala												tago	ccato	gac	2036
tgat	tccc	ag a	actga	aatca	a C											2056

<210> 42

<211> 642

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 42

Leu Lys Glu Thr Phe Leu Ala Arg Gln Lys Lys Ser Ala Ala Ser Ala 1 5 10 15

Trp Glu Arg Trp Pro Lys Arg Ala Ile Ala Leu Phe Val Leu Ile Val 20 25 30

Val Gly Val Tyr Ala Leu Val Leu Thr Gly Asp Arg Ser Ala Thr
35 40 45

Pro Lys Leu Gly Ile Asp Leu Gln Gly Gly Thr Arg Val Thr Leu Val
50 60

Pro Gln Gly Gln Asp Pro Thr Gln Asp Gln Leu Asn Gln Ala Arg Thr 65 70 75 80

Ile Leu Glu Asn Arg Val Asn Gly Met Gly Val Ser Gly Ala Ser Val
85 90 95

Val Ala Asp Gly Asn Thr Leu Val Ile Thr Val Pro Gly Glu Asn Thr 100 105 110

Ala Gln Ala Gln Ser Leu Gly Gln Thr Ser Gln Leu Leu Phe Arg Pro 115 120 125

Val Gly Gln Ala Gly Met Pro Asp Met Thr Thr Leu Met Pro Glu Leu 130 135 140

Glu Glu Met Ala Asn Arg Trp Val Glu Tyr Gly Val Ile Thr Glu Glu 145 150 155 160

Gln Ala Asn Ala Ser Leu Glu Glu Met Asn Thr Ala Val Ala Ser Thr 165 170 175

Thr Ala Val Glu Glu Glu Glu Ala Thr Glu Pro Glu Pro Val Thr Val
180 185 190

Ser Ala Thr Pro Met Asp Glu Pro Ala Asn Ser Ile Glu Ala Thr Gln 195 200 205

Arg Arg Gln Glu Ile Thr Asp Met Leu Arg Thr Asp Arg Gln Ser Thr 210 215 220

Asp Pro Thr Val Gln Ile Ala Ala Ser Ser Leu Met Gln Cys Thr Thr 225 230 235 240

Asp Glu Met Asp Pro Leu Ala Gly Thr Asp Asp Pro Arg Leu Pro Leu 245 250 255

Val Ala Cys Asp Pro Ala Val Gly Gly Val Tyr Val Leu Asp Pro Ala 260 265 270

Pro Leu Leu Asn Gly Glu Thr Asp Glu Glu Asn Gly Ala Arg Leu Thr 275 280 285

Gly Asn Glu Ile Asp Thr Asn Arg Pro Ile Thr Gly Gly Phe Asn Ala 290 295 300

Gln Ser Gly Gln Met Glu Ile Ser Phe Ala Phe Lys Ser Gly Asp Gly

305					310					315					320
Glu	Glu	Gly	Ser	Ala 325	Thr	Trp	Ser	Ser	Leu 330	Thr	Ser	Gln	Tyr	Leu 335	Gln
Gln	Gln	Ile	Ala 340	Ile	Thr	Leu	Asp	Ser 345	Gln	Val	Ile	Ser	Ala 350	Pro	Val
Ile	Gln	Ser 355	Ala	Thr	Pro	Val	Gly 360	Ser	Ala	Thr	Ser.	Ile 365	Thr	Gly	Asp
Phe	Thr 370	Gln	Thr	Glu	Ala	Gln 375	Asp	Leu	Ala	Asn	Asn 380	Leu	Arg	Tyr	Gly
Ala 385	Leu	Pro	Leu	Ser	Phe 390	Ala	Gly	Glu	Asn	Gly 395	Glu	Arg	Gly	Gly	Thr 400
Thr	Thr	Thr	Val	Pro 405	Pro	Ser	Leu	Gly	Ala 410	Ala	Ser	Leu	Lys	Ala 415	Gly
Leu	Ile	Ala	Gly 420	Ile	Val	Gly	Ile	Ala 425	Leu	Val	Ala	Ile	Phe 430	Va1	Phe
Ala	Tyr	Tyr 435	Arg	Val	Phe	Gly	Phe 440	Val	Ser	Leu	Phe	Thr 445	Leu	Phe	Ala
Ala	Gly 450	Val	Leu	Val	Tyr	Gly 455	Leu	Leu	Val	Leu	Leu 460	Gly	Arg	Trp	Ile
Gly 465	Tyr	Ser	Leu	Asp	Leu 470	Ala	Gly	Ile	Ala	Gly 475	Leu	Ile	Ile	Gly	Ile 480
Gly	Thr	Thr	Ala	Asp 485	Ser	Phe	Val	Val	Phe 490	Туr	Glu	Arg	Ile	Lys 495	Asp
Glu	Ile	Arg	Glu 500	Gly	Arg	Ser	Phe	Arg 505	Ser	Ala	Val	Pro	Arg 510	Ala	Trp
Glu	Ser	Ala 515	Lys	Arg	Thr	Ile	Val 520	Thr	Gly	Asn	Met	Val 525	Thr	Leu	Leu
Gly	Ala 530	Ile	Val	Ile	Tyr	Leu 535	Leu	Ala	Val	Gly	Glu 540	Val	Lys	Gly	Phe
Ala 545	Phe	Thr	Leu	Gly	Leu 550	Thr	Thr	Val	Phe	Asp 555	Leu	Val	Val	Thr	Phe 560
Leu	Ile	Thr	Ala	Pro 5 6 5	Leu	Val	Ile	Leu	Ala 570	Ser	Arg	Asn	Pro	Phe 575	Phe
Ala	Lys	Ser	Ser 580	Val	Asn	Gly	Met	Gly 585	Arg	Val	Met	Lys	Leu 590	Val	Glu
Glu	Arg	Arg 595	Ala	Asn	Gly	Glu	Leu 600	Asp	Glu	Pro	Glu	Tyr 605	Leu	Lys	Lys
Ile	His 610	Ala	Lys	Asn	Ala	Ala 615	Ala	Asp	Lys	Ala	Ser 620	Thr	qzA	Asn	Ser
Ser 625	Thr	Asp	Asn	Ser		Ala	Pro	Gly	Thr		Thr	Asn	Gln	Glu	Glu
					630					635					640

<211> 1909

	2> I 3> C		ebac	teri	um g	luta	micu	m								
<22	0> 1> C 2> (3> R	101)		.879)												
-	0> 4 cagg	_	gcgg	ggta	at t	cgaa	aacc	a tt	cgaa	.caat	ttt	.cgag	gat	ttag	aaaaaa	60
cgt	tege	ata	aatt	gtta	ga a	ctga	tgta	c ac	tttg	aggc		Leu		gac Asp		115
														ttc Phe 20		163
														acc Thr		211
														gct Ala		259
														ttt Phe		307
														atc Ile		355
														gct Ala 100		403
														ggt Gly		451
														ttg Leu		499
														cgc Arg		547
														cgc Arg		595
														gat Asp 180		643
														gat Asp		691

ctg	caa	ttc	gcg	att	aat	gag	atc	gag	gaa	gtc	tcg	cca	cag	cca	ggc	739
Leu	Gln	Phe 200	Ala	Ile	Asn	Glu	Ile 205	Glu	Glu	Val	Ser	Pro 210	Gln	Pro	${ t Gly}$	
	gac Asp 215															787
	ctg Leu															835
	tct Ser															883
	gag Glu															931
	agt Ser															979
	acc Thr 295															1027
	gat Asp															1075
	c a g Gln															1123
	gtg Val															1171
	att Ile															1219
	cag Gln 375															1267
	aag Lys															1315
	ctg Leu															1363
gag Glu	gcg Ala	tgc Cys	gcc Ala 425	agc Ser	ggt Gly	atc Ile	gac Asp	cag Gln 430	gtg Val	gaa Glu	ttc Phe	cag Gln	ctc Leu 435	gca Ala	gca Ala	1411
	gcc Ala															1459

	,,,,	,0,010	100							80					101	, LI 02, 12
gaa Glu	ctt Leu 455	tcc Ser	cgc Arg	gtt Val	atg Met	ttg Leu 460	gcg Ala	ctc Leu	gag Glu	gtg Val	atc Ile 465	ttg Leu	gct Ala	gct Ala	gga Gly	1507
												gca Ala				1555
												cgc Arg				1603
												gt <i>c</i> Val				1651
												gaa Glu 530				1699
												gtg Val				1747
												ggc Gly				1795
												gaa Glu				1843
							ctc Leu					taag	gagtt	tt		1889
	_	tt t	ttag	gege	g											1909
<210	> 44	<u>.</u>														

<211> 593

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 44

Met Leu Val Asp Ile Ala Ile Glu Asn Leu Gly Val Ile Pro Ala Ala 1 5 10 15

Ser Ala Glu Phe Ser Ser Gly Leu Thr Val Leu Thr Gly Glu Thr Gly 20 25 30

Ala Gly Lys Thr Met Val Val Thr Gly Leu Arg Leu Leu Ser Gly Gly 35 40 45

Arg Ala Asp Ala Ser Arg Val Arg Thr Gly Ser Pro Gln Ala Val Val 50 55 60

Glu Gly Arg Phe Val Thr Gln Gly Val Pro Cys Asp Ile Val Glu Arg 65 70 75 80

Ala Thr Gly Ile Val Ser Asn Ala Gly Gly Ala Ala Asp Glu Asn Gly

Glu Phe Leu Ala | Arg Ser Val Gly Ala Asn Gly Arg Ser Lys Ala 100 | 105 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110

Ser Pro Glu Arg Gln Leu Glu Ala Leu Asp Arg Phe Asp Pro Glu Leu 145 150 155 160

Ala Gln Leu Arg Lys Asn Tyr Asn Ala Lys Tyr Leu Thr Trp Lys Ser 165 170 175

Leu Asp Lys Asp Leu Gln Lys Arg Leu Ser Ser Arg Arg Glu Leu Ala 180 185 190

Gln Glu Val Asp Arg Leu Gln Phe Ala Ile Asn Glu Ile Glu Glu Val 195 200 205

Ser Pro Gln Pro Gly Glu Asp Ala Glu Leu Val Glu Gln Ile Arg Arg 210 215 220

Leu Gln Asp Val Asp Thr Leu Arg Glu Gln Ala Ala Thr Ala Leu Ala 225 230 235 240

Ala Ile Asp Gly Ala Gly Ser Leu Ser Asp Ala Met Gly Gly Ser Gly 245 250 255

Gly Phe Asp Glu Ser Gln Glu Ser Ala Ser Asp Gln Leu Gly Gln Ala 260 265 270

Glu Ser Ala Leu Ala Gly Ser Asp Asp Ser Lys Leu Lys Asp Ile Ala 275 280 285

Val Gln Leu Ala Glù Ile Thr Ser Gln Leu Ser Gln Val Ser Met Glu 290 295 300

Leu Gly Gly Phe Leu Ser Asp Leu Pro Ala Asp Pro Gln Ala Leu Asp 305 310 315 320

Asp Met Leu Thr Arg Gln Gln Gln Leu Lys Leu Leu Thr Arg Lys Tyr 325 330 335

Ala Ala Asp Ile Asp Gly Val Ile Glu Trp Gln Arg Lys Ala Gln Ile 340 345 350

Arg Leu Asp Ser Ile Asp Ile Ser Ser Glu Ala Leu Asp Lys Leu Lys 355 360 365

Glu Asp Ala Lys Lys Ala Gln Ala Ser Met Met Arg Ala Ala Lys Lys 370 375 380

Leu Ser Ala Val Arg Ala Lys Ala Ala Thr Lys Leu Gly Thr Thr Val 385 390 395 400

Thr Glu Glu Leu Gln Gly Leu Ala Met Gln Lys Ala Arg Phe Glu Val 405 410 415

Ala Leu Thr Ser Ile Glu Ala Cys Ala Ser Gly Ile Asp Gln Val Glu
420 425 430

Phe Gln Leu Ala Ala Asn Ala Phe Ala Gln Pro Arg Pro Leu Ala Ser

435 440 445

Ser Ala Ser Gly Gly Glu Leu Ser Arg Val Met Leu Ala Leu Glu Val 450 455 460

Ile Leu Ala Ala Gly Thr Thr Gly Thr Thr Leu Val Phe Asp Glu Val 465 470 475 480

Asp Ala Gly Val Gly Gly Arg Ala Ala Val Glu Ile Gly Arg Arg Leu 485 490 495

Ala Arg Leu Ala Thr Lys Asn Gln Val Ile Val Val Thr His Leu Pro 500 505 510

Gln Val Ala Ala Tyr Ala Asp Thr His Leu His Val Ala Lys Asn Val 515 520 525

Gly Glu Ala Ser Val Thr Ser Gly Val Glu Ser Leu Thr Phe Asp Arg 530 535 540

Arg Val Glu Glu Leu Ser Arg Met Leu Ala Gly Leu Asp Asp Thr Ala 545 550 550

Thr Gly Arg Ala His Ala Thr Glu Leu Leu Glu Arg Ala Gln Arg Glu
565 570 575

Lys Glu Asp Ile Asn Glu Glu Arg Val Glu Pro Leu Leu Ala Ala Ser 580 585 590

Ala

<210> 45

<211> 265

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(235)

<223> RXA01651

<400> 45

caatctctaa ggagaaagtt tatgacaaat aggacctgac ccctgtttgg tagacaccta 60

acateceaac attetgggae agaaaggtaa ectacetate atg eea ace aag ace 115

Met Pro Thr Lys Thr

1 5

tac tcc gag gag ttc aaa cgc gac gcc gtt gct ttg tac gag aac tcc 163
Tyr Ser Glu Glu Phe Lys Arg Asp Ala Val Ala Leu Tyr Glu Asn Ser
10 15 20

gat ggg gcc tca ctc caa cag atc gcc aac gat ctc ggc atc aac cga 211
Asp Gly Ala Ser Leu Gln Gln Ile Ala Asn Asp Leu Gly Ile Asn Arg
25 30 35

gta acc ctg aaa aac ttc gat caa taaatacggt gcgcatgcct caaccaacac 265 Val Thr Leu Lys Asn Phe Asp Gln 40

WO 03/040180 89 . <211> 45 <212> PRT <213> Corynebacterium glutamicum <400> 46 Met Pro Thr Lys Thr Tyr Ser Glu Glu Phe Lys Arg Asp Ala Val Ala Leu Tyr Glu Asn Ser Asp Gly Ala Ser Leu Gln Gln Ile Ala Asn Asp Leu Gly Ile Asn Arg Val Thr Leu Lys Asn Phe Asp Gln <210> 47 <211> 538 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(508) <223> RXA01710 <400> 47 tctcggcgct aatctggttt attggtgata tccgagccaa gggaactccg agctcaccca 60 ttaccactga tccaacgcac gaccatcttg agaggacagc atg aca gac ttc aaa 115 Met Thr Asp Phe Lys ctc atc agc gat acc gag tgg cgc gaa cgc ctc acc ccg cag gaa ttc 163 Leu Ile Ser Asp Thr Glu Trp Arg Glu Arg Leu Thr Pro Gln Glu Phe cat gtc ctc cgc gaa gcc ggc acc gaa cca cct cac gtc ggt gaa tac 211 His Val Leu Arg Glu Ala Gly Thr Glu Pro Pro His Val Gly Glu Tyr acc aac acc acc gaa ggt gtg tac tcc tgt cgc gcc tgt ggt gaa 259 Thr Asn Thr Thr Glu Gly Val Tyr Ser Cys Arg Ala Cys Gly Glu 45 qaq tta ttc cgc tcc acc qaq aaq ttt gaa tcc cac tgc ggt tgg cct 307 Glu Leu Phe Arg Ser Thr Glu Lys Phe Glu Ser His Cys Gly Trp Pro 60 tcc ttc ttc tcc cca ctt gct ggc gac aaa atc att gag aag gaa gat 355 Ser Phe Phe Ser Pro Leu Ala Gly Asp Lys Ile Ile Glu Lys Glu Asp 75 ctt tcc ctc ggt atg cgt cgc gtt gag att ctg tgc gct aac tgc ggc 403 Leu Ser Leu Gly Met Arg Arg Val Glu Ile Leu Cys Ala Asn Cys Gly 90

gat ctt cgt tac tgc att aac tcc atc agc ttg aag ctg gaa gaa aag 499

451

tet cac atg ggt cac gtc ttc gaa ggc gaa ggc tac gac acc ccc acc

Ser His Met Gly His Val Phe Glu Gly Glu Gly Tyr Asp Thr Pro Thr

Asp Leu Arg Tyr Cys Ile Asn Ser Ile Ser Leu Lys Leu Glu Glu Lys

120 125 130 538 cca gtt tcc taagcttccg agcacgaaac gagccttggc

Pro Val Ser 135

<210> 48

<211> 136

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 48

Met Thr Asp Phe Lys Leu Ile Ser Asp Thr Glu Trp Arg Glu Arg Leu 5 15 1

Thr Pro Gln Glu Phe His Val Leu Arg Glu Ala Gly Thr Glu Pro Pro

His Val Gly Glu Tyr Thr Asn Thr Thr Glu Gly Val Tyr Ser Cys 35 40

Arg Ala Cys Gly Glu Glu Leu Phe Arg Ser Thr Glu Lys Phe Glu Ser 55

His Cys Gly Trp Pro Ser Phe Phe Ser Pro Leu Ala Gly Asp Lys Ile 65 70 75

Ile Glu Lys Glu Asp Leu Ser Leu Gly Met Arg Arg Val Glu Ile Leu

Cys Ala Asn Cys Gly Ser His Met Gly His Val Phe Glu Gly Glu Gly 100

Tyr Asp Thr Pro Thr Asp Leu Arg Tyr Cys Ile Asn Ser Ile Ser Leu 120

Lys Leu Glu Glu Lys Pro Val Ser 130 135

<210> 49

<211> 1417

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(1387)

<223> RXA01852

<400> 49

aaccaccacc atgcgtgcag aacgcactgg taaccctttc ttgctggcac tgtagggcta 60

agttccgtac tacttcttcg aataggtatc gttaataatc gtg agt caa aac aag Val Ser Gln Asn Lys 1

tcc aag tct gaa aag ctt cag tca ttt gct gca ccc aag ggt gtt cct 163 Ser Lys Ser Glu Lys Leu G1n Ser Phe Ala Ala Pro Lys Gly Val Pro 20 10

gat tac gcc cca cca aaa tct gca gcg ttt tta gca gtc cgt gat gcc 211

Asp	Tyr	Ala	Pro 25	Pro	Lys	Ser	Ala	Ala 30	Phe	Leu	Ala	Val	Arg 35	Asp	Ala	
ttt Phe	gtt Val	aat Asn 40	caa Gln	gca Ala	cat His	aag Lys	gcc Ala 45	GJÀ aaa	ttt Phe	gag Glu	cat	att Ile 50	gag Glu	ctg Leu	ccg Pro	259
			gac Asp													307
gac Asp 70	gta Val	gtg Val	agc Ser	aag Lys	gaa Glu 75	atg Met	tac Tyr	acc Thr	ttc Phe	gct Ala 80	gat Asp	cgt Arg	ggc Gly	gag Glu	cgc Arg 85	355
tct Ser	gtc Val	acg Thr	ctg Leu	cgc Arg 90	cca Pro	gaa Glu	ggc Gly	act Thr	gca Ala 95	ggc Gly	gtg Val	atg Met	cgt Arg	gca Ala 100	gtt Val	403
att Ile	gaa Glu	cac His	agc Ser 105	ctg Leu	gac Asp	cgt Arg	gga Gly	cag Gln 110	ctt Leu	ccc Pro	gta Val	aag Lys	ctg Leu 115	aac Asn	tac Tyr	451
			ttc Phe													499
			caa Gln													547
			gag Glu													595
			gat Asp													643
tgc Cys	cgt Arg	ccc Pro	gag Glu 185	tat Tyr	cgt Arg	cag Gln	aag Lys	ctg Leu 190	cag Gln	gat Asp	ttc Phe	ttg Leu	ttt Phe 195	gca Ala	ctt Leu	691
cct Pro	ttg Leu	gat Asp 200	gag Glu	gaa Glu	acc Thr	cgc Arg	aag Lys 205	cgc Arg	gca Ala	gag Glu	atc Ile	aac Asn 210	cca Pro	ctt Leu	cgg Arg	739
gtg Val	ttg Leu 215	gat Asp	gat Asp	aag Lys	cgt Arg	cct Pro 220	gaa Glu	gtc Val	caa Gln	gag Glu	atg Met 225	act Thr	gcg Ala	gat Asp	gca Ala	787
			ctg Leu													835
			ggt Gly													883
cca Pro	cgc Arg	atg Met	gtt Val 265	cgt Arg	ggt Gly	ttg Leu	gat Asp	tac Tyr 270	tac Tyr	acc Thr	aag Lys	act Thr	tgt Cys 275	ttt Phe	gag Glu	931
ttc	gtt	cac	gat	ggc	ctg	ggc	gca	cag	tct	ggc	att	ggt	ggc	ggc	gga	979

	****	03/04	0100							92	}				rei	./EFU2/12
Phe	Val	His 280	Asp	Gly	Leu	Gly	Ala 285	Gln	Ser	Gly	Ile	Gly 290	Gly	Gly	Gly	
															ggc Gly	1027
		tat Tyr														1075
		gtg Val														1123
		ggc Gly														1171
		gct Ala 360														1219
		ggt Gly														1267
		ctg Leu														1315
gat Asp		cgt Arg														1363
gcc Ala								taaa	taat	tc a	ataag	ytaaa	aa aa	accgt	caat	1417
<211 <212	> 50 > 42 > PF > Co	9	ebact	eriu	ım gl	.utam	nicum	ı								
<400 Val 1	> 50 Ser	_	Asn	Lys 5	Ser	Lys	Ser	Glu	Lys 10	Leu	Gln	Ser	Phe	Ala 15	Ala	
Pro	Lys	${ t Gly}$	Val 20	Pro	Asp	Tyr	Ala	Pro 25	Pro	Lys	Ser	Ala	Ala 30	Phe	Leu	

Asp Arg Gly Glu Arg Ser Val Thr Leu Arg Pro Glu Gly Thr Ala Gly

93 90 95 85 Val Met Arg Ala Val Ile Glu His Ser Leu Asp Arg Gly Gln Leu Pro 105 100 Val Lys Leu Asn Tyr Ala Gly Pro Phe Phe Arg Tyr Glu Arg Pro Gln 120 Ala Gly Arg Tyr Arg Gln Leu Gln Gln Val Gly Val Glu Ala Ile Gly 135 Val Asp Asp Pro Ala Leu Asp Ala Glu Ile Ile Ala Leu Ala Asp Arg Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Leu Gln Asp Phe Arg Leu Glu Leu Thr Ser 165 Leu Gly Asp Arg His Cys Arg Pro Glu Tyr Arg Gln Lys Leu Gln Asp 185 Phe Leu Phe Ala Leu Pro Leu Asp Glu Glu Thr Arg Lys Arg Ala Glu Ile Asn Pro Leu Arg Val Leu Asp Asp Lys Arg Pro Glu Val Gln Glu 215 Met Thr Ala Asp Ala Pro Leu Met Leu Asp His Leu Asp Ala Glu Cys 225 Arg Glu His Phe Glu Thr Val Thr Gly Leu Leu Asp Asp Met Gly Val Pro Tyr Val Ile Asn Pro Arg Met Val Arg Gly Leu Asp Tyr Tyr Thr Lys Thr Cys Phe Glu Phe Val His Asp Gly Leu Gly Ala Gln Ser Gly 280 Ile Gly Gly Gly Arg Tyr Asp Gly Leu Met Ala Gln Leu Gly Gly 295 Gln Asp Leu Ser Gly Ile Gly Tyr Gly Leu Gly Val Asp Arg Thr Met 315 Leu Ala Leu Glu Ala Glu Gly Val Thr Val Gly Ala Glu Arg Arg Val Asp Val Tyr Gly Val Pro Leu Gly Lys Asp Ala Lys Lys Ala Leu Ala 345 Gly Ile Val Asn Thr Leu Arg Ala Ala Gly Ile Ser Thr Asp Met Ser

Tyr Gly Asp Arq Gly Leu Lys Gly Ala Met Lys Gly Ala Asp Arg Ser 375

Asn Ala Leu Tyr Thr Leu Val Leu Gly Glu Glu Leu Glu Asn Asn 385

Thr Ile Ala Val Lys Asp Met Arg Ala His Glu Gln His Asp Val Ala 410

Leu Asp Glu Val Val Ala Phe Leu Gln Gly Lys Leu Ile 425 420

<210><211><212><213>	> 95	55 IA	ebact	ceri	ım gi	lutar	nicu	n								
<220><221><222><222>	> CI	01)		25)												
<400> acctg			cact	ttt	ca ga	acggg	geggg	g tag	gggc	tact	gtg	cccta	aac (ctaa	gcttgt	60
aaagc	att	aa t	tato	ccata	ac at	aagg	gagga	a tc	gece	cgta			aac Asn			115
gct g Ala A																163
gat t Asp C																211
gtt g Val G																259
gag c Glu A	gt Irg 55	aac Asn	gct Ala	acc Thr	gaa Glu	ggt Gly 60	ctc Leu	gtt Val	gca Ala	gtt Val	tct Ser 65	ggc Gly	aac Asn	acc Thr	atg Met	307
gtc g Val G 70																355
aag g Lys G																403
aac t Asn S																451
gac g Asp A	lla	gct Ala 120	ctg Leu	cag Gln	gag Glu	ttc Phe	tcc Ser 125	gca Ala	aag Lys	atc Ile	ggc Gly	gag Glu 130	aag Lys	ctt Leu	gag Glu	499
ctt c Leu A 1																547
cac o His G 150																595
ttc a Phe T																643
atg c Met G																691

4.0		95		
185		190	195	
cct gca gag ato Pro Ala Glu Ile 200	: Ile Glu Lys Gl	ag cgc tcc atc gct gag lu Arg Ser Ile Ala Gl 05 21	u Gln Ile Thr	
		ag gct atc cct aag atc ln Ala Ile Pro Lys Ile 225		
		ag aac gta ctt ctt gag lu Asn Val Leu Leu Gli 240		
		tt aag gct ctt ctg gad al Lys Ala Leu Leu Asp 255		
-	Ser Phe Ala Ar	gc ttc gag gtc ggc cag rg Phe Glu Val Gly Gli 270		
taaggccact tgaa	ggttgt gggtgggt	cgt	955	
<210> 52 <211> 275 <212> PRT <213> Corynebac	terium glutamic	cum		
<400> 52 Met Ala Asn Tyr 1	Thr Ala Ala As	sp Val Lys Lys Leu Arg 10	g Glu Leu Thr 15	
Gly Ser Gly Met	Len Asp Cvs Lv			
20		s Lys Ala Leu Glu Glv 25	u Ser Ala Gly 30	
20	Ala Val Glu Il		30 y Ala Lys Asp	
20 Asp Phe Asp Lys 35	Ala Val Glu Il	25 le Leu Arg Val Lys Gly	30 y Ala Lys Asp 5	
Asp Phe Asp Lys 35 Val Gly Lys Arg 50	Ala Val Glu II 4 Ala Glu Arg As 55	25 Le Leu Arg Val Lys Gly 40 45 Sn Ala Thr Glu Gly Leu	30 y Ala Lys Asp 5 u Val Ala Val	
Asp Phe Asp Lys 35 Val Gly Lys Arg 50 Ser Gly Asn Thr 65	Ala Val Glu II Ala Glu Arg As 55 Met Val Glu Va 70	25 Le Leu Arg Val Lys Gly 10 45 Sn Ala Thr Glu Gly Leu 60 al Asn Ser Glu Thr Asp	30 y Ala Lys Asp 5 u Val Ala Val p Phe Val Ala 80	
Asp Phe Asp Lys 35 Val Gly Lys Arg 50 Ser Gly Asn Thr 65 Lys Asn Ser Asp	Ala Val Glu II Ala Glu Arg As 55 Met Val Glu Va 70 Phe Lys Glu Ph 85 Ala Asn Ser Gl	25 Le Leu Arg Val Lys Gly 10 45 Sn Ala Thr Glu Gly Leu 60 al Asn Ser Glu Thr Asn 75 ne Ala Ala Lys Val Ala	30 y Ala Lys Asp to Val Ala Val p Phe Val Ala 80 a Asp Ala Ala 95	
Asp Phe Asp Lys 35 Val Gly Lys Arg 50 Ser Gly Asn Thr 65 Lys Asn Ser Asp Ala Ala Lys 100	Ala Val Glu II Ala Glu Arg As 55 Met Val Glu Va 70 Phe Lys Glu Ph 85 Ala Asn Ser Gl	25 Le Leu Arg Val Lys Gly 45 Sn Ala Thr Glu Gly Leu 60 Al Asn Ser Glu Thr Asn 75 ne Ala Ala Lys Val Ala 90 Ln Glu Glu Leu Ala Ala 105 La Leu Gln Glu Phe Ser	30 y Ala Lys Asp 5 u Val Ala Val Phe Val Ala 80 a Asp Ala Ala 95 a Val Asp Val 110 r Ala Lys Ile	
Asp Phe Asp Lys 35 Val Gly Lys Arg 50 Ser Gly Asn Thr 65 Lys Asn Ser Asp Ala Ala Lys 100 Asp Gly Gln Thr 115	Ala Val Glu II Ala Glu Arg As 55 Met Val Glu Va 70 Phe Lys Glu Ph 85 Ala Asn Ser Gl Ala Asp Ala Al	25 Le Leu Arg Val Lys Gly 45 Sn Ala Thr Glu Gly Leu 60 Al Asn Ser Glu Thr Asn 75 ne Ala Ala Lys Val Ala 90 Ln Glu Glu Leu Ala Ala 105 La Leu Gln Glu Phe Ser	30 y Ala Lys Asp 5 u Val Ala Val Phe Val Ala 80 a Asp Ala Ala 95 a Val Asp Val 110 r Ala Lys Ile	

Gly Val Leu Val Ala Phe Thr Gly Glu Gly Glu Ala Ala Glu Ala Ala

170

175

Ala Arg Gln Ala Ala Met Gln Ile Ala Ala Leu Lys Ala Ser Tyr Leu 180 185 Thr Arg Glu Asp Val Pro Ala Glu Ile Ile Glu Lys Glu Arg Ser Ile 200 Ala Glu Gln Ile Thr Arg Glu Glu Gly Lys Pro Glu Gln Ala Ile Pro 215 Lys Ile Val Glu Gly Arg Leu Asn Gly Phe Tyr Lys Glu Asn Val Leu Leu Glu Gln Ser Ser Val Ala Asp Ser Lys Lys Thr Val Lys Ala Leu 245 Leu Asp Glu Ala Gly Val Thr Val Thr Ser Phe Ala Arg Phe Glu Val 260 265 Gly Gln Ala 275 <210> 53 <211> 1747 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(1717) <223> RXA02145 <400> 53 cactgccaca gctgccaatt accgttgatg aagagggcta cctcatcgcc gctggtaact 60 tcattgagcc actcggccct gcattctggg agcgtaagtc atg agt cta gct acc Met Ser Leu Ala Thr 1 gtg gga aac aat ctt gat too cgt tac acc atg gcg tog ggt atc cgt 163 Val Gly Asn Asn Leu Asp Ser Arg Tyr Thr Met Ala Ser Gly Ile Arg 20 cgc cag atc aac aag gtc ttc cca act cac tgg tcc ttc atg ctc ggc 211 Arg Gln Ile Asn Lys Val Phe Pro Thr His Trp Ser Phe Met Leu Gly 25 gag att gcg ctt tac agc ttc atc gtc ttg ctg ctg act ggt gtc tac 259 Glu Ile Ala Leu Tyr Ser Phe Ile Val Leu Leu Leu Thr Gly Val Tyr 40 ctg acc ctg ttc ttc gac cca tca atc acc aag gtc att tat gac ggc 307 Leu Thr Leu Phe Phe Asp Pro Ser Ile Thr Lys Val Ile Tyr Asp Gly 55 ggc tac ctc cca ctg aac ggt gtg gag atg tcc cgt gca tac gca act 355 Gly Tyr Leu Pro Leu Asn Gly Val Glu Met Ser Arg Ala Tyr Ala Thr 70 gcg ttg gat att tcc ttc gag gtt cgc ggt ggt ctg ttc atc cgc cag 403 Ala Leu Asp Ile Ser Phe Glu Val Arg Gly Gly Leu Phe Ile Arg Gln 90 100 atg cac cac tgg gca gcc ctg ctg ttc gtt gta tcc atg ctg gtt cac 451

										91						
Met	His	His	Trp 105	Ala	Ala	Leu	Leu	Phe 110	Val	Val	Ser	Met	Leu 115	Val	His	
_		-	att Ile													499
			atc Ile				_									547
			tac Tyr													595
			tcc Ser													643
_			ctg Leu 185					_							-	691
			tac Tyr													739
			gca Ala													787
			ggc ggc													835
			ctg Leu													883
	Gly	Phe	ctc Leu 265	Ala	Leu	Leu		Gly	Val	Thr	Thr	Ile				931
			gga Gly													979
			tac Tyr													1027
			ctc Leu													1075
_	_		atg Met					Val								1123
			cgt Arg 345													1171
cag	cgt	cct	cgc	gat	gtt	cca	gtc	cgc	acc	tca	ctc	ggt	gtc	atg	gcg	1219

										90						
Gln	Arg	Pro 360	Arg	A s p	Val	Pro	Val 365	Arg	Thr	Ser	Leu	Gly 370	Val	Met	Ala	
					ctg Leu											1267
					gtt Val 395											1315
					gga Gly											1363
_	_			_	cag Gln	-		_	_		_	_	_		_	1411
					atc Ile											1459
					ggc Gly											1507
					gct Ala 475											1555
					acc Thr											1603
					gct Ala											1651
					cgt Arg											1699
		gag Glu			aac Asn	tagt	ttet	ag g	gactt	cato	ct ct	gaaa	actco	2		1747
<211 <212)> 54 .> 53 ?> PF	39 RT	ebact	eri	ım gi	lutar	nicum	a								

<213> Corynebacterium glutamicum

Met Ser Leu Ala Thr Val Gly Asn Asn Leu Asp Ser Arg Tyr Thr Met

Ala Ser Gly Ile Arg Gln Ile Asn Lys Val Phe Pro Thr His Trp

Ser Phe Met Leu Gly Glu Ile Ala Leu Tyr Ser Phe Ile Val Leu Leu

Leu Thr Gly Val Tyr Leu Thr Leu Phe Phe Asp Pro Ser Ile Thr Lys Val Ile Tyr Asp Gly Gly Tyr Leu Pro Leu Asn Gly Val Glu Met Ser Arg Ala Tyr Ala Thr Ala Leu Asp Ile Ser Phe Glu Val Arg Gly Gly Leu Phe Ile Arg Gln Met His His Trp Ala Ala Leu Leu Phe Val Val 105 Ser Met Leu Val His Met Leu Arg Ile Phe Phe Thr Gly Ala Phe Arg 120 Arg Pro Arg Glu Ala Asn Trp Ile Ile Gly Val Val Leu Ile Ile Leu 135 Gly Met Ala Glu Gly Phe Met Gly Tyr Ser Leu Pro Asp Asp Leu Leu 150 155 Ser Gly Val Gly Leu Arg Ile Met Ser Ala Ile Ile Val Gly Leu Pro 170 Ile Ile Gly Thr Trp Met His Trp Leu Ile Phe Gly Gly Asp Phe Pro 180 185 190 Ser Asp Leu Met Leu Asp Arg Phe Tyr Ile Ala His Val Leu Ile Ile 200 Pro Ala Ile Leu Leu Gly Leu Ile Ala Ala His Leu Ala Leu Val Trp 210 215 Tyr Gln Lys His Thr Gln Phe Pro Gly Ala Gly Arg Thr Glu Asn Asn 230 235 Val Ile Gly Ile Arg Ile Met Pro Leu Phe Ala Val Lys Ala Val Ala Phe Gly Leu Ile Val Phe Gly Phe Leu Ala Leu Leu Ala Gly Val Thr 265 Thr Ile Asn Ala Ile Trp Asn Leu Gly Pro Tyr Asn Pro Ser Gln Val Ser Ala Gly Ser Gln Pro Asp Val Tyr Met Leu Trp Thr Asp Gly Ala Ala Arg Val Met Pro Ala Trp Glu Leu Tyr Leu Gly Asn Tyr Thr Ile Pro Ala Val Phe Trp Val Ala Val Met Leu Gly Ile Leu Val Val Leu Leu Val Thr Tyr Pro Phe Ile Glu Arg Lys Phe Thr Gly Asp Asp Ala 340 345 His His Asn Leu Clu Gln Arg Pro Arg Asp Val Pro Val Arg Thr Ser 360 Leu Gly Val Met Ala Leu Val Phe Tyr Ile Leu Leu Thr Val Ser Gly 370 375 Gly Asn Asp Val Tyr Ala Met Gln Phe His Val Ser Leu Asn Ala Met

		100	J	
385	390	395		400
Thr Trp Ile Gly	Arg Ile Gly 405	y Leu Ile Val Gly 410	Pro Ala Ile Ala 415	Tyr
Phe Ile Thr Tyr 420	Arg Leu Cys	s Ile Gly Leu Gln 425	Arg Ser Asp Arg 430	Glu
Val Leu Glu His 435	Gly Ile Glu	a Thr Gly Ile Ile 440	Lys Gln Met Pro 445	Asn
Gly Ala Phe Ile 450	Glu Val His	s Gln Pro Leu Gly	Pro Val Asp Asp 460	His
Gly His Pro Ile 465	Pro Leu Pro 470	o Tyr Ala Gly Ala 475	Ala Val Pro Lys	Gln 480
Met Asn Gln Leu	Gly Tyr Ala 485	a Glu Val Glu Thr 490	Arg Gly Gly Phe 495	Phe
Gly Pro Asp Pro 500	Glu Asp Ile	e Arg Ala Lys Ala 505	Lys Glu Ile Glu 510	His
Ala Asn His Ile 515	Glu Glu Ala	a Asn Thr Leu Arg 520	Ala Leu Asn Glu 525	Ala
Asn Ile Glu Arg 530	Asp Lys Asr 535	n Glu Gly Lys Asn 5		
<pre><211> 448 <212> DNA <213> Corynebact <220> <221> CDS <222> (101)(41) <223> RXA02236</pre>		amicum		
<400> 55 gcaggctgac atcct	itggta ttaac	ccaggt gtaccctcga	tttctggata ctttg	gtatt 60
ccttttgtca ctaaa	aaacca cacga	ataacg gaggaacccc	gtg gcc ctt cca Val Ala Leu Pro 1	_ =
		g gca gcg ctt gct s Ala Ala Leu Ala 15	Lys Ala Ala Glu	
			20	
Arg Lys Ala Arg 25		c aaa gag aac ctg 1 Lys Glu Asn Leu 30	aag cgc ggc aac	
25 aac ctc agg gaa	Ala Glu Leu gtt ctg gao	ı Lys Glu Asn Leu	aag cgc ggc aac Lys Arg Gly Asn 35 gac gag atc atc	Thr ggc 259
aac ctc agg gaa Asn Leu Arg Glu 40 aag acc aag gtc	Ala Glu Leu gtt ctg gac Val Leu Asp	Lys Glu Asn Leu 30 aag gct gag tct Lys Ala Glu Ser 45 ctc gag gct ctc Leu Glu Ala Leu	aag cgc ggc aac Lys Arg Gly Asn 35 gac gag atc atc Asp Glu Ile Ile 50 cct aag gtt ggc	Thr ggc 259 Gly aag 307

101 Val Lys Ala Lys Glu Ile Met Asp Glu Leu Gly Ile Ala Gln Thr Arg 70 cgt ctt cgt gga ctg ggt gac cgt cag cgt cgc gca ctt ctc gag cgt 403 Arg Leu Arg Gly Leu Gly Asp Arg Gln Arg Arg Ala Leu Leu Glu Arg 95 448 ttc ggc ttc gag gat taattcttca gtgtcgggcg ataaccaact Phe Gly Phe Glu Asp 105 <210> 56 <211> 106 <212> PRT <213> Corynebacterium glutamicum <400> 56 Val Ala Leu Pro Gln Leu Thr Asp Glu Gln Arg Lys Ala Ala Leu Ala Lys Ala Ala Glu Ala Arg Lys Ala Arg Ala Glu Leu Lys Glu Asn Leu Lys Arg Gly Asn Thr Asn Leu Arg Glu Val Leu Asp Lys Ala Glu Ser 40 Asp Glu Ile Ile Gly Lys Thr Lys Val Ser Ala Leu Leu Glu Ala Leu 55 Pro Lys Val Gly Lys Val Lys Ala Lys Glu Ile Met Asp Glu Leu Gly Ile Ala Gln Thr Arg Arg Leu Arg Gly Leu Gly Asp Arg Gln Arg Arg Ala Leu Leu Glu Arg Phe Gly Phe Glu Asp 100 <210> 57 <211> 1003 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(973) <223> RXA02267 <400> 57 tgcgctcggc aagtgttttg cttatcgacg tctccccaca taacaatccc aactcgaagc 60 accaacgatt caagccttat cagttttgta caggaaaata gtg caa aaa tgg ggt Val Gln Lys Trp Gly tta agc ttc gtg gag agg att gtc atc atg aac aac gtg caa cag ttt 163 Leu Ser Phe Val Glu Arg Ile Val Ile Met Asn Asn Val Gln Gln Phe

211

10

cat cga ttt ttt gat gat tcc gca gtc tat tat ccc tgc ttc gtc ccg

		00,00	0100							10	12				- `	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
His	s Arg	Phe	Phe 25) Asp	Ser	Ala	val		Туз	r Pro	Cys	F Phe		. Pro	
ctt Lei	gac Asp	cga Arg 40	, Ala	atc Ile	ggc Gly	gaa Glu	cac His	Phe	gat Asp	cgt Arg	cag g Glr	aac Asr 50	ı Lys	a ccg s Pro	atg Met	259
t co Ser	aga Arg 55	Phe	ato Ile	gga Gly	acg Thr	ctc Leu 60	Ile	ctg Leu	ccg Pro	tta Lev	a gcc a Ala 65	Lys	a ctg 5 Lei	gaa 1 Glu	gaa Glu	307
gcc Ala 70	Ala	caa Gln	. tac .Tyr	acc Thr	ggc Gly 75	Asp	gaa Glu	gtc Val	ctt Leu	cgc Arc	y Val	tcg Ser	gca Ala	gta Val	atc Ile 85	355
agt Ser	act Thr	gat Asp	Gly	ctc Leu 90	Ala	gat Asp	ctg Leu	cga Arg	agg Arg 95	Asp	ttt Phe	tac Tyr	gaa Glu	ctc Leu 100		403
aac Asn	atc Ile	gac Asp	atc Ile 105	gcc Ala	tcg Ser	gtg Val	gaa Glu	atc Ile 110	aag Lys	ctg Leu	gtc Val	Gly	gca Ala 115	Ala	ctc Leu	451
	aac Asn												Gln			499
cgc Arg	aac Asn 135	act Thr	ttc Phe	gta Val	tgg Trp	gtt Val 140	gag Glu	att Ile	ccg Pro	aca Thr	gcc Ala 145	ctg Leu	gtc Val	acc Thr	gca Ala	547
gat Asp 150	att Ile	gtc Val	cga Arg	aaa Lys	ctc Leu 155	cgc Arg	cac His	atg Met	gga Gly	gct Ala 160	Gly	ctg Leu	aaa Lys	tac Tyr	aga Arg 165	595
	gga Gly															643
act Thr	gtg Val	ctg Leu	cgc Arg 185	Thr	Ala	Ile	Asp	gct Ala 190	Ala	ttg Leu	ccg Pro	Phe	aaa Lys 195	ctc Leu	act Thr	691
gca Ala	ggc Gly	ctg Leu 200	cat His	cgt Arg	gct Ala	ctc Leu	agg Arg 205	tat Tyr	cgt Arg	gac Asp	gag Glu	aaa Lys 210	acc Thr	ggc Gly	cga Arg	739
ctt Leu	cac His 215	ttc Phe	gga Gly	ttc Phe	ctc Leu	aac Asn 220	att Ile	gca Ala	gcc Ala	gcc Ala	gtg Val 225	gcg Ala	aca Thr	ctt Leu	cgt Arg	787
gct Ala 230	gga Gly	aaa Lys	ggc Gly	gag Glu	gca Ala 235	gag Glu	gca Ala	ctg Leu	aag Lys	atc Ile 240	ctt Leu	gaa Glu	ggc Gly	gat Asp	gat Asp 245	835
gcc Ala	gct Ala	ccg Pro	Leu	att Ile 250	cac His	gca Ala	cta Leu	Gln	agc Ser 255	ggc Gly	gaa Glu	aac Asn	tgg Trp	cgg Arg 260	gat Asp	883
tcc Ser	ttc Phe	Arg	agc Ser 265	ttc Phe	agt Ser	acc Thr	tgc Cys	aat Asn 270	gtt Val	gtt Val	gaa Glu	cca Pro	ctc Leu 275	aac Asn	act Thr	931
ctg	att	gat	ctt	gat	gtg	ttg	gcg	gaa	gga	gac	gta	cat	ccc			973

Leu Ile Asp Leu Asp Val Leu Ala Glu Gly Asp Val His Pro 280 285 290

taaggatcga cgctagttag atcggttttt

1003

<210> 58

<211> 291

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 58

Val Gln Lys Trp Gly Leu Ser Phe Val Glu Arg Ile Val Ile Met Asn 1 5 10 15

Asn Val Gln Gln Phe His Arg Phe Phe Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
20 25 30

Pro Cys Phe Val Pro Leu Asp Arg Ala Ile Gly Glu His Phe Asp Arg 35 40 45

Gln Asn Lys Pro Met Ser Arg Phe Ile Gly Thr Leu Ile Leu Pro Leu 50 55 60

Ala Lys Leu Glu Glu Ala Ala Gln Tyr Thr Gly Asp Glu Val Leu Arg
65 70 75 80

Val Ser Ala Val Ile Ser Thr Asp Gly Leu Ala Asp Leu Arg Asp 85 90 95

Phe Tyr Glu Leu Pro Asn Ile Asp Ile Ala Ser Val Glu Ile Lys Leu 100 105 110

Val Gly Ala Ala Leu Thr Asn Thr Ala Trp Leu Gly Asp Val Glu Lys
115 120 125

Leu Ile Gln Gln His Arg Asn Thr Phe Val Trp Val Glu Ile Pro Thr 130 135 140

Ala Leu Val Thr Ala Asp Ile Val Arg Lys Leu Arg His Met Gly Ala 145 150 155 160

Gly Leu Lys Tyr Arg Thr Gly Gly Asp Arg Glu Glu Leu Phe Pro Ser 165 170 175

Pro Gln Asp Leu Val Thr Val Leu Arg Thr Ala Ile Asp Ala Ala Leu 180 185 190

Pro Phe Lys Leu Thr Ala Gly Leu His Arg Ala Leu Arg Tyr Arg Asp 195 200 205

Glu Lys Thr Gly Arg Leu His Phe Gly Phe Leu Asn Ile Ala Ala 210 215 220

Val Ala Thr Leu Arg Ala Gly Lys Gly Glu Ala Glu Ala Leu Lys Ile 225 230 235 240

Leu Glu Gly Asp Asp Ala Ala Pro Leu Ile His Ala Leu Gln Ser Gly 245 250 255

Glu Asn Trp Arg Asp Ser Phe Arg Ser Phe Ser Thr Cys Asn Val Val 260 265 270

Glu Pro Leu Asn Thr Leu Ile Asp Leu Asp Val Leu Ala Glu Gly Asp

275 280 285

Val His Pro 290

<210> 59
<211> 1984
<212> DNA
<213> Corynebacterium glutamicum
<220>
<221> CDS

<222> (101)..(1954) <223> RXA02280

<400> 59

ggtcgaggtg tcgtagatgt caatgagctt cgcgattgcg tcatcgatcg ttgttgcttc 60

catgcgcacc acactatctt tctgcacgcc ctgatgccct gtg gat tca aaa ctg 115

Val Asp Ser Lys Leu

1 5

tgc ttt tat agg cgt atg caa gaa tcc tca cgt gat aat ttc caa gtt 163 Cys Phe Tyr Arg Arg Met Gln Glu Ser Ser Arg Asp Asn Phe Gln Val 10 15 20

gac ctc ggc ggc gtt gtt gat ctt ttg agt cgc cac att tat tcc ggt 211
Asp Leu Gly Gly Val Val Asp Leu Leu Ser Arg His Ile Tyr Ser Gly
25 30 35

ccg agg gtg tat gtg cgt gag ttg ctg cag aat gcg gtt gat gct tgt 259
Pro Arg Val Tyr Val Arg Glu Leu Leu Gln Asn Ala Val Asp Ala Cys
40 45 50

act gca cgt tct gaa cag ggt gag gag ggc tac gag ccg agt att cgt 307
Thr Ala Arg Ser Glu Gln Gly Glu Glu Gly Tyr Glu Pro Ser Ile Arg
55 60 65

att cgg ccg gtg acc aag gat cgt gcc acg ttt tca ctg gtt gat aat 355

Ile Arg Pro Val Thr Lys Asp Arg Ala Thr Phe Ser Leu Val Asp Asn
70 75 80 85

ggt acg ggc ctg acc gcg cag gag gcg cgg gaa ttg ctg gcg acg gtg 403
Gly Thr Gly Leu Thr Ala Gln Glu Ala Arg Glu Leu Leu Ala Thr Val
90 95 100

ggg cgg acg tcg aaa cgc gat gaa ttc ggt ctg cag cgg gaa ggt cgc 451 Gly Arg Thr Ser Lys Arg Asp Glu Phe Gly Leu Gln Arg Glu Gly Arg 105 110 115

ctg ggg caa ttt ggc atc ggg ctg ctt agt tgt ttc atg gtg gcg gat 499 Leu Gly Gln Phe Gly Ile Gly Leu Leu Ser Cys Phe Met Val Ala Asp 120 125 130

gag atc acc atg gtg tcg cat gcg gag ggt gcg tcg gcg att cgg tgg 547 Glu Ile Thr Met Val Ser His Ala Glu Gly Ala Ser Ala Ile Arg Trp 135 140 145

act ggt cat gcg gat ggc acc ttt aac ctg gag att ctt ggg gat gac 595
Thr Gly His Ala Asp Gly Thr Phe Asn Leu Glu Ile Leu Gly Asp Asp
150 160 165

gca acg gat gtc att ccg gtg ggc acg act gtg cac ctg act ccg cgc 643

										10.	,					
Ala	Thr	Asp	Val	Ile 170	Pro	Val	Gly	Thr	Thr 175	V al	His	Leu	Thr	Pro 180	Arg	
														att Ile		691
														ggt Gly		739
														act Thr		787
														act Thr		835
														gct Ala 260		883
gta Val	ttg Leu	ccg Pro	gag Glu 265	gcc Ala	cag Gln	gct Ala	ccg Pro	cat His 270	atg Met	tcc Ser	agg Arg	cgt Arg	cac His 275	agt Ser	att Ile	931
														ctg Leu		979
														ttg Leu		1027
														gcg Ala		1075
		Glu	His	Ile		Glu	Cys	Ile	Lys	Ser	Trp	Leu	Ile	aat Asn 340		1123
														cat His		1171
														gaa Glu		1219
														tcg Ser		1267
														cag Gln		1315
														cgc Arg 420	ccg Pro	1363
gac	acc	ttg	att	att	aat	ggc	ggc	tac	att	cac	gac	agc	gat	ctg	gct	1411

										TO	o					
Asp	Thr	Leu	Ile 425	Ile	Asn	Gly	Gly	Туг 430	Ile	His	Asp	Ser	Asp 435	Leu	Ala	
											gta Val					1459
											ccg Pro 465					1507
											gaa Glu					1555
											ccc Pro					1603
											tca Ser					1651
											gaç Asp					1699
											att Ile 545					1747
											tcg Ser					1795
											cgc Arg					1843
											cca Pro					1891
											ctg Leu				tct Ser	1939
			gat Asp		taag	gacaa	atc (ctccg	gctaa	at ct	cgag	ggca	à.			1984
<211 <212)> 60 l> 61 l> PF l> Co	.8 T	ebact	Ceri	nw al	Lutar	nicur	n								

Val Asp Ser Lys Leu Cys Phe Tyr Arg Arg Met Gln Glu Ser Ser Arg 1 5 10 15

<400> 60

Asp Asn Phe Gln Val Asp Leu Gly Gly Val Val Asp Leu Leu Ser Arg

107 20 25 30 His Ile Tyr Ser Gly Pro Arg Val Tyr Val Arg Glu Leu Leu Gln Asn 40 Ala Val Asp Ala Cys Thr Ala Arg Ser Glu Gln Gly Glu Gly Tyr Glu Pro Ser Ile Arg Ile Arg Pro Val Thr Lys Asp Arg Ala Thr Phe 70 Ser Leu Val Asp Asn Gly Thr Gly Leu Thr Ala Gln Glu Ala Arg Glu Leu Leu Ala Thr Val Gly Arg Thr Ser Lys Arg Asp Glu Phe Gly Leu 105 110 Gln Arg Glu Gly Arg Leu Gly Gln Phe Gly Ile Gly Leu Leu Ser Cys 120 Phe Met Val Ala Asp Glu Ile Thr Met Val Ser His Ala Glu Gly Ala 130 135 Ser Ala Ile Arg Trp Thr Gly His Ala Asp Gly Thr Phe Asn Leu Glu 150 155 Ile Leu Gly Asp Asp Ala Thr Asp Val Ile Pro Val Gly Thr Thr Val 165 170 His Leu Thr Pro Arg Pro Asp Glu Arg Thr Leu Leu Thr Glu Asn Ser 1.85 Val Val Thr Ile Ala Ser Asn Tyr Gly Arg Tyr Leu Pro Ile Pro Ile 200 Val Val Gln Gly Glu Lys Asn Thr Thr Ile Thr Thr Ser Pro Val Phe 215 Ala Lys Asp Thr Asp Gln Gln His Arg Leu Tyr Ala Gly Arg Glu Arg 225 Leu Gly Lys Thr Pro Phe Asp Val Ile Asp Leu Thr Gly Pro Gly Ile Glu Gly Val Ala Tyr Val Leu Pro Glu Ala Gln Ala Pro His Met Ser Arg Arg His Ser Ile Tyr Val Asn Arg Met Leu Val Ser Asp Gly Pro 280 Ser Thr Val Leu Pro Asn Trp Ala Phe Phe Val Glu Cys Glu Ile Asn 290 295 Ser Thr Asp Leu Glu Pro Thr Ala Ser Arg Glu Ala Leu Met Asp Asp 315 310 Thr Ala Phe Ala Ala Thr Arg Glu His Ile Gly Glu Cys Ile Lys Ser 325 Trp Leu Ile Asn Leu Ala Met Thr Lys Pro His Arg Val Arg Glu Phe

345

365

Thr Ala Ile His Asp Leu Ala Leu Arg Glu Leu Cys Gln Ser Asp Ala

360

Asp Leu Ala Glu Thr Met Leu Gly Leu Leu Thr Leu Glu Thr Ser Arg 370 375 380

Gly Arg Ile Ser Ile Gly Glu Ile Thr Thr Leu Ser Ile Thr Glu Asp 385 390 395 400

Val Ser Leu Gln Leu Ala Thr Thr Leu Asp Asp Phe Arg Gln Leu Asn 405 410 415

Thr Ile Ala Arg Pro Asp Thr Leu Ile Ile Asn Gly Gly Tyr Ile His
420 425 430

Asp Ser Asp Leu Ala Arg Leu Ile Pro Val His Tyr Pro Pro Leu Thr 435 440 445

Val Ser Thr Ala Asp Leu Arg Glu Ser Met Asp Leu Met Glu Leu Pro 450 455 460

Pro Leu Gln Asp Ile Glu Lys Ala Lys Ala Leu Asp Ala Gln Val Thr 465 470 475 480

Glu Ser Leu Lys Asp Phe Gln Ile Lys Gly Ala Thr Arg Val Phe Glu
485 490 495

Pro Ala Asp Val Pro Ala Val Val Ile Ile Asp Ser Lys Ala Gln Ala 500 505 510

Ser Arg Asp Arg Asn Glu Thr Gln Ser Ala Thr Thr Asp Arg Trp Ala 515 520 525

Asp Ile Leu Ala Thr Val Asp Asn Thr Leu Ser Arg Gln Thr Ala Asn 530 535 540

Ile Pro Gln Asp Gln Gly Leu Ser Ala Leu Cys Leu Asn Trp Asn Asn 545 550 550 560

Ser Leu Val Arg Lys Leu Ala Ser Thr Asp Asp Thr Ala Val Val Ser 565 570 575

Arg Thr Val Arg Leu Leu Tyr Val Gln Ala Leu Leu Ser Ser Lys Arg 580 585 590

Pro Leu Arg Val Lys Glu Arg Ala Leu Leu Asn Asp Ser Leu Ala Asp 595 600 605

Leu Val Ser Leu Ser Leu Ser Ser Asp Ile 610 615

<210> 61

<211> 1792

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(1762)

<223> RXA02388

<400> 61

ttcgggagag caacggtggg tttagcaccg tggaggattt actgcaggtc aaggggattg 60

ggccctcaaa gtttgagcag atctctggat tggtgtcccc atg att gag gtg cgt 115
Met Ile Glu Val Arg

WO 03/040180 PCT/EP02/12138

											1.				J	
ttg Leu	gtt Val	ccg Pro	gtg Val	gcg Ala 10	gct Ala	gtg Val	atg Met	tgg Trp	atg Met 15	gct Ala	gtc Val	gct Ala	gcg Ala	ttg Leu 20	att Ile	163
atc Ile	agt Ser	ggt Gly	tcg Ser 25	tgg Trp	gtg Val	ttg Leu	tcg Ser	gtg Val 30	ggg ggg	att Ile	gtt Val	ggc	atc Ile 35	gcg Ala	atc Ile	211
			tgt Cys													259
			gtt Val													307
			ttt Phe													355
atc Ile	aag Lys	ttt Phe	tta Leu	gac Asp 90	agc Ser	ggt Gly	gat Asp	caa Gln	cta Leu 95	atc Ile	ggt Gly	ttg Leu	aga Arg	gta Val 100	gaa Glu	403
			gcg Ala 105													451
			tct Ser													499
ttc Phe	cct Pro 135	G17 aaa	gtg Val	ggt Gly	gat Asp	ctg Leu 140	acc Thr	att Ile	tcc Ser	act Thr	gaa Glu 145	gac Asp	att Ile	gat Asp	cag Gln	547
			acc Thr													595
ggg Gly	ttt Phe	tcc Ser	caa Gln	gcc Ala 170	gtg Val	gaa Glu	gaa Glu	acc Thr	gtg Val 175	Gly ggg	gag Glu	tct Ser	tcc Ser	cgt Arg 180	gga Gly	643
			ggc Gly 185													691
			acc Thr													739
agt Ser	gga Gly 215	agc Ser	aat Asn	gta Val	gcc Ala	att Ile 220	gtg Val	gtg Val	tcc Ser	tct Ser	gtg Val 225	gtg Val	gtg Val	ttg Leu	tcg Ser	787
			acc Thr													835
tcc	tta	gtt	att	ttt	gtc	tcc	ctc	gtg	ggg	ttt	gaa	cca	agt	gtg	ctt	883

										TT	Ų.					
Ser	Leu	Val	Ile	Phe 250	Val	Ser	Leu	Val	Gly 255	Phe	Glu	Pro	Ser	Val 260	Leu	
								ggg Gly 270								931
								ttg Leu								979
								gtg Val								1027
								atg Met								1075
								tgg Trp								1123
								gct Ala 350								1171
								tcc Ser								1219
								ccc Pro								1267
								tgg Trp								1315
			Glu		Phe	Thr	Trp	tgg Trp	Ile	His			Ala		Trp	1363
								ctg Leu 430								1411
								gcg Ala								1459
								gca Ala								1507
ctt Leu 470								ctg Leu								1555
gag Glu								gat Asp								1603
ccc	gaa	cat	gca	gaa	ttg	atc	atc	gtg	gaa	gac	ccc	cac	ggc	agc	atg	1651

Pro Glu His Ala Glu Leu Ile Ile Val Glu Asp Pro His Gly Ser Met 505 510 tee gat ege eee ate gte ace aga gaa gga ate eet gtg etg tat eea 1699 Ser Asp Arg Pro Ile Val Thr Arg Glu Gly Ile Pro Val Leu Tyr Pro 520 tac cgc gat ggg gag gtc agc ctt cat att gat ggc acc cag cat gca 1747 Tyr Arg Asp Gly Glu Val Ser Leu His Ile Asp Gly Thr Gln His Ala 535 gcg gac ggg aga ttt taacgacact tgtggcacga tggtcacgtg 1792 Ala Asp Gly Arg Phe 550 <210> 62 <211> 554 <212> PRT <213> Corynebacterium glutamicum <400> 62 Met Ile Glu Val Arg Leu Val Pro Val Ala Ala Val Met Trp Met Ala Val Ala Ala Leu Ile Ile Ser Gly Ser Trp Val Leu Ser Val Gly Ile 25 Val Gly Ile Ala Ile Ile Ala Ala Cys Val Phe Lys His Trp Gly Gln Ala Val Val Ile Ala Ala Leu Gly Val Gly Ala Val Val Met Ala Ala 50 Leu Arg Ile Ser Ser Ala Lys Ala Phe Glu Ala Pro Gln Thr Trp Val Gly Thr Ala Glu Thr Ile Lys Phe Leu Asp Ser Gly Asp Gln Leu Ile 90 Gly Leu Arg Val Glu Gly Tyr Pro Ala Pro Ile Pro Val Phe Tyr Ser 100 105 Gly Ser Asp Thr Ile Glu Lys Ala Ser Leu Ile Ala Val Ser Gly Arg 115 120 Ile Lys Pro Asp Ser Phe Pro Gly Val Gly Asp Leu Thr Ile Ser Thr 135 Glu Asp Ile Asp Gln Leu Glu Pro Thr Thr Gly Tyr Ser Ala Trp Val 145 150 155 Asn Gln Val Arg Asp Gly Phe Ser Gln Ala Val Glu Glu Thr Val Gly 170 Glu Ser Ser Arg Gly Leu Ile Pro Gly Met Val Leu Gly Asp Thr Arg 185 Leu Gln Gly Ser Ile Glu Ala Gln Thr Tyr Ile Asp Thr Gly Leu Ser 200

His Leu Ser Ala Val Ser Gly Ser Asn Val Ala Ile Val Val Ser Ser

220

215

Val Val Leu Ser Tyr Phe Leu Thr Ala Gly Pro Arg Ile Arg Val 230 235 Val Ala Ser Leu Leu Ser Leu Val Ile Phe Val Ser Leu Val Gly Phe Glu Pro Ser Val Leu Arg Ala Ser Val Thr Gly Ile Val Gly Leu Leu Ala Ile Ile Asn Ser Ser Arg Met Glu Pro Met His Gly Leu Ser Leu 280 Ser Val Ile Cys Leu Leu Phe Tyr Asp Ser Asn Leu Ala Val His Tyr 290 295 Gly Phe Leu Leu Ser Cys Ala Ala Thr Ala Gly Ile Val Met Leu Gln 315 Pro Leu Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Pro Pro Leu Ala Val Trp Lys Val 330 Pro Asp Ile Val Val Arg Ala Phe Ala Val Ser Ile Ala Ala Asp Leu Val Thr Ile Pro Ile Ile Ala Leu Met Ala Arg Gln Ile Ser Leu Val Ala Val Leu Ala Asn Val Leu Val Glu Leu Ala Val Pro Pro Ile Thr 375 380 Leu Leu Gly Leu Ile Ala Val Leu Ala Ser Leu Leu Pro Trp Pro Val 395 Glu Tyr Pro Leu Leu Lys Ile Ile Glu Pro Phe Thr Trp Ile His 410 His Val Ala Lys Trp Cys Gln Gln Leu Pro Asn Ser Thr Leu Glu Ile 425 Ser Ala Gly Trp Ala Gly Ile Ala Trp Ala Cys Met Ala Ala Val Trp 440 Val Val Val Ile Ile Tyr Lys Gly Tyr Val Arg Thr Leu Ala Val Cys 455 Cys Val Cys Phe Phe Leu Phe Gly Ala Trp Asn Asn Arg Leu Pro Ala Gln Ile Asp Pro Thr Glu Leu Arg Phe Val Ile Ile Ala Asp Asp Ser Glu Leu Thr Asp Val Pro Glu His Ala Glu Leu Ile Ile Val Glu Asp 505 Pro His Gly Ser Met Ser Asp Arg Pro Ile Val Thr Arg Glu Gly Ile Pro Val Leu Tyr Pro Tyr Arg Asp Gly Glu Val Ser Leu His Ile Asp 535 Gly Thr Gln His Ala Ala Asp Gly Arg Phe

550

<211> 2977 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <221> CDS <222> (101)..(2947) <223> RXA02416 <400> 63 agtcatgtgg ttcagactag cggaaacacc ttgttcgatg ctatgttcga aggtgtattt 60 tttgaagcga caaaaatcga ttttgaaggg cagttgagca ttg gct gat cgc ctc 115 Leu Ala Asp Arg Leu gta gtg cgc gga gcg cgt gaa cat aac cta aaa ggc gtg gat att gat 163 Val Val Arg Gly Ala Arg Glu His Asn Leu Lys Gly Val Asp Ile Asp 15 211 ttg cca cgc gac tcg atg gtg gtg ttc acc ggc ctg tca ggt tcc ggt Leu Pro Arg Asp Ser Met Val Val Phe Thr Gly Leu Ser Gly Ser Gly 30 259 aaa tca tca ctg gcc ttt gac acc atc ttt gcg gaa ggc cag cgc cgt Lys Ser Ser Leu Ala Phe Asp Thr Ile Phe Ala Glu Gly Gln Arg Arg 45 40 tac gtg gag tcg ttg tcc agt tac gcc cgc atg ttc ttg ggg cag atg 307 Tyr Val Glu Ser Leu Ser Ser Tyr Ala Arg Met Phe Leu Gly Gln Met 55 60 gac aag ccg gac gtg gat ttg att gat gga tta tcc cca gcg gtc tcc 355 Asp Lys Pro Asp Val Asp Leu Ile Asp Gly Leu Ser Pro Ala Val Ser 70 75 403 att gac caa aaa tee aec aac ege aac eet egg tee aea gte ggt acc Ile Asp Gln Lys Ser Thr Asn Arg Asn Pro Arg Ser Thr Val Gly Thr 90 95 100 atc acg gaa gtc tat gac tac ctg cgt ctt ctg tac gcc cgc gct ggt 451 Ile Thr Glu Val Tyr Asp Tyr Leu Arg Leu Leu Tyr Ala Arg Ala Gly 105 110 115 acc gca cac tgc cca gtg tgt gat gcc cgc gtg gag Cgt caa acc ccc 499 Thr Ala His Cys Pro Val Cys Asp Ala Arg Val Glu Arg Gln Thr Pro 120 125 130 cag cag atg gtg gac caa atc ctt ggc atg gag gga ctg aag ttc 547 Gln Gln Met Val Asp Gln Ile Leu Gly Met Glu Glu Gly Leu Lys Phe 135 140 595 caa atc ctt gcg cct gtg gtg cgt acc cgt aaa ggt gag ttc gtt gat Gln Ile Leu Ala Pro Val Val Arg Thr Arg Lys Gly Glu Phe Val Asp 150 155 ctt ttc gca gat ctt gca tcc caa ggt tat tcc cgc gtg cgg gtt gat 643 Leu Phe Ala Asp Leu Ala Ser Gln Gly Tyr Ser Arg Val Arg Val Asp 170 180 ggg gaa gtg cac cag ctc tcg gat cct cca aag cta gaa aag cag atc 691 Gly Glu Val His Gln Leu Ser Asp Pro Pro Lys Leu Glu Lys Gln Ile 190 185

									T T.	=					
				gat Asp											739
				ctg L e u											787
-			_	gtg Val	_		-		_		_	-	_	-	835
			_	cga Arg 250		_	_	_	_	_				_	883
				gat Asp											931
				tgt Cys											979
				ctg Leu											1027
	-	_		tgg Trp											1075
				ctg Leu 330											1123
	_	-		acc Thr											1171
				agc Ser											1219
				cct Pro											1267
				gat Asp											1315
				ccc Pro 410											1363
				gtt Val											1411
				acc Thr											1459

											,					
gat Asp	aac Asn 455	ctc Leu	aca Thr	ctg Leu	ggc Gly	aag Lys 460	cgc Arg	gag Glu	gaa Glu	atg Met	atc Ile 465	gcg Ala	gga Gly	gct Ala	gtg Val	1507
				cac His												1555
				ctt Leu 490												1603
				cgc Arg												1651
				ttg Leu												1699
aac Asn	cag Gln 535	cgc Arg	ttg Leu	atc Ile	act Thr	acc Thr 540	ctt Leu	gag Glu	cat His	ctc Leu	cga Arg 545	gat Asp	atc Ile	gga Gly	aac Asn	1747
				gtg Val												1795
				att Ile 570												1843
				gag Glu												1891
				ttg L e u												1939
				gac Asp												1987
				cag Gln												2035
				ggt Gly 650												2083
				aag Lys												2131
				gca Ala												2179
-	_			gat Asp	_	_							_			2227

cca gcg acg tac acg ggt gtg ttt gat aaa gtc cgt aac ctt ttt gcc 22																
		_		-	ggt Gly 715			_		_	_				-	2275
			_		aag Lys	-	_									2323
					gga Gly											2371
_	-		-	_	aac Asn		-		_			-	-	-	-	2419
					cgc Arg											2467
					gct Ala 795											2515
					ccc Pro											2563
_	-	_	_		ctt Leu			-	-							2611
					gaa Glu											2659
					ggt Gly											2707
		-			gaa Glu 875	_		-			_	_	-		-	2755
		_		_	ggt Gly							_				2803
					gcc Ala		Trp									2851
					acc Thr											2899
					tcc Ser											2947
tag	gagaa	ıga t	gagg	ggct	t to	atgg	gaag	•								2977

<211> 949

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 64

Leu Ala Asp Arg Leu Val Val Arg Gly Ala Arg Glu His Asn Leu Lys 1 5 10 15

Gly Val Asp Ile Asp Leu Pro Arg Asp Ser Met Val Val Phe Thr Gly 20 25 30

Leu Ser Gly Ser Gly Lys Ser Ser Leu Ala Phe Asp Thr Ile Phe Ala 35 40 45

Glu Gly Gln Arg Arg Tyr Val Glu Ser Leu Ser Ser Tyr Ala Arg Met 50 55 60

Phe Leu Gly Gln Met Asp Lys Pro Asp Val Asp Leu Ile Asp Gly Leu 65 70 75 80

Ser Pro Ala Val Ser Ile Asp Gln Lys Ser Thr Asn Arg Asn Pro Arg 85 90 95

Ser Thr Val Gly Thr Ile Thr Glu Val Tyr Asp Tyr Leu Arg Leu Leu 100 105 110

Tyr Ala Arg Ala Gly Thr Ala His Cys Pro Val Cys Asp Ala Arg Val 115 120 125

Glu Arg Gln Thr Pro Gln Gln Met Val Asp Gln Ile Leu Gly Met Glu 130 135 140

Glu Gly Leu Lys Phe Gln Ile Leu Ala Pro Val Val Arg Thr Arg Lys
145 150 155 160

Gly Glu Phe Val Asp Leu Phe Ala Asp Leu Ala Ser Gln Gly Tyr Ser 165 170 175

Arg Val Arg Val Asp Gly Glu Val His Gln Leu Ser Asp Pro Pro Lys
180 185 190

Leu Glu Lys Gln Ile Lys His Asp Ile Asp Val Val Asp Arg Leu 195 200 205

Gln Val Lys Ala Ser Gln Lys Gln Arg Leu Thr Asp Ser Met Glu Thr 210 215 220

Ala Leu Arg Leu Ala Asp Gly Val Ala Val Leu Glu Phe Val Gly Leu 225 230 235 240

Glu Glu Asp Asp Pro Asn Arg Leu Arg Arg Phe Ser Glu Lys Met Ser 245 250 255

Cys Pro Asn Gly His Ala Leu Thr Val Asp Glu Leu Glu Pro Arg Ala 260 265 270

Phe Ser Phe Asn Ser Pro Tyr Gly Ala Cys Pro Ala Cys Asp Gly Leu 275 280 285

Gly Val Arg Thr Glu Val Asp Ile Asp Leu Ile Ile Pro Asp Pro Asp 290 295 300

Ala Pro Ala Thr Lys Ala Val Gln Pro Trp Asn Ser Ser Pro Asn His

305					310					315					320
Ser	Tyr	Phe	Glu	Lys 325	Leu	Ile	Glu	Gly	Leu 330	Ala	Lys	Ala	Leu	Gly 335	Phe
Asp	Pro	Glu	Thr 340	Pro	Tyr	Ser	Glu	Leu 345	Thr	Ala	Ala	Gln	Lys 350	Lys	Ala
Leu	Val	Tyr 355	Gly	Ser	Lys	Glu	Glu 360	Val	Ser	Va1	Arg	Tyr 365	Lys	Asn	Arg
Tyr	Gly 370	Arg	Val	Arg	Ser	Trp 375	Thr	Ala	Pro	Phe	Glu 380	Gly	Val	Met	Gly
Tyr 385	Phe	Asp	Arg	Lys	Leu 390	Glu	Gln	Thr	Asp	Ser 395	Glu	Thr	Gln	Lys	Asp 400
Arg	Leu	Leu	Gly	Tyr 405	Thr	Arg	Glu	Val	Pro 410	Cys	Pro	Thr	Cys	Lys 415	Gly
Ala	Arg	Leu	Lys 420	Pro	Glu	Ile	Leu	Ala 425	Va1	Arg	Leu	Asp	Ser 430	Gly	Ser
His	Gly	A1a 435	Leu	Ser	Ile	Ala	Gly 440	Leu	Thr	Ala	Leu	Ser 445	Val	His	Glu
Ala	Phe 450	Glu	Phe	Leu	Asp	Asn 455	Leu	Thr	Leu	Gly	Lys 460	Arg	Glu	Glu	Met
Ile 465	Ala	Gly	Ala	Val	Leu 470	Lys	Glu	Ile	His	Ala 475	Arg	Leu	Lys	Phe	Leu 480
Leu	Asp	Val	Gly	Leu 485	Ser	Tyr	Leu	Thr	Leu 490	Asp	Arg	Ala	Ala	Gly 495	Thr
Leu	Ser	Gly	Gly 500	Glu	Ala	Gln	Arg	Ile 505	Arg	Leu	Ala	Thr	Gln 510	Ile	Gly
Ser	Gly	Leu 515	Ala	Gly	Val	Leu	Туr 520	Val	Leu	Asp	Glu	Pro 525	Ser	Ile	Gly
Leu	His 530	Gln	Arg	Asp	Asn	Gln 535	Arg	Leu	Ile	Thr	Thr 540	Leu	Glu	His	Leu
Arg 545	Asp	Ile	Gly	Asn	Thr 550	Leu	Ile	Val	Val	Glu 555	His	Asp	Glu	Asp	Thr 560
Ile	Arg	Arg	Ala	Asp 565	Trp	Leu	Val	Asp	Ile 570	Gly	Pro	Arg	Ala	Gly 575	Glu
Phe	Gly	Gly	Glu 580	Val	Val	Tyr	Gln	Gly 585	Glu	Pro	Lys	Gly	Ile 590	Leu	Asp
Cys	Glu	Glu 595	Ser	Leu	Thr	Gly	Ala 600	Tyr	Leu	Ser	Gly	Arg 605	Arg	Thr	Leu
Gly	Val 610	Pro	qaA	Thr	Arg	Arg 615	Glu	Ile	Asp	Lys	Glu 620	Arg	Gln	Leu	Lys
Val 625	Val	Gly	Ala	Arg	Glu 630	Asn	Asn	Leu	Gln	Gly 635	Ile	Asp	Val	Lys	Ile 640
Pro	Leu	Gly	Va1	Leu 645	Cys	Cys	Ile	Thr	Gly 650	Val	Ser	Gly	Ser	Gly 655	Lys

Ser Thr Leu Val Asn Gln Ile Leu Ala Lys Val Leu Ala Asn Lys Leu 660 665 670

Asn Arg Ala Arg Gln Val Pro Gly Arg Ala Lys Arg Val Glu Gly Leu 675 680 685

Glu His Leu Asp Lys Leu Val Gln Val Asp Gln Ser Pro Ile Gly Arg 690 695 700

Thr Pro Arg Ser Asn Pro Ala Thr Tyr Thr Gly Val Phe Asp Lys Val 705 710 715 720

Arg Asn Leu Phe Ala Glu Thr Thr Glu Ala Lys Val Arg Gly Tyr Lys
725 730 735

Pro Gly Arg Phe Ser Phe Asn Ile Lys Gly Gly Arg Cys Glu Ala Cys 740 745 750

Gln Gly Asp Gly Thr Leu Lys Ile Glu Met Asn Phe Leu Pro Asp Val 755 760 765

Tyr Val Pro Cys Glu Val Cys Asp Gly Gln Arg Tyr Asn Arg Glu Thr 770 775 780

Leu Glu Val Lys Tyr Lys Gly Lys Asn Ile Ala Glu Val Leu Gly Met 785 790 795 800

Pro Ile Ser Glu Ala Ala Asp Phe Phe Glu Pro Ile Thr Ser Ile His 805 810 815

Arg Tyr Leu Ala Thr Leu Val Asp Val Gly Leu Gly Tyr Val Arg Leu 820 825 830

Gly Gln Ala Ala Thr Thr Leu Ser Gly Gly Glu Ala Gln Arg Val Lys 835 840 845

Leu Ala Ala Glu Leu Gln Lys Arg Ser Asn Gly Arg Thr Val Tyr Ile 850 855 860

Leu Asp Glu Pro Thr Thr Gly Leu His Phe Glu Asp Ile Arg Lys Leu 865 870 875 880

Met Met Val Ile Glu Gly Leu Val Asp Lys Gly Asn Ser Val Ile Ile 885 890 895

Ile Glu His Asn Leu Asp Val Ile Lys Ala Ala Asp Trp Ile Val Asp 900 905 910

Met Gly Pro Glu Gly Gly Ser Gly Gly Gly Thr Val Val Ala Glu Gly 915 920 925

Thr Pro Glu Gln Val Ala Glu Val Ala Gly Ser Tyr Thr Gly Gln Phe 930 935 940

Leu Lys Glu Leu Leu 945

<210> 65

<211> 697

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

120 <221> CDS <222> (101)..(667) <223> RXA02418 <400> 65 gacacggact agtgcccgtg tataactctt gaaagtcaga tctcccgttc atcctagatg 60 atgaacgggt ttttggtctg cataggggca atcacctcaa gtg gtt cgg tac gtc Val Val Arg Tyr Val aaa ttt tcc cgc act gct aac aga gga gtc cac atc agc gct gaa gct Lys Phe Ser Arg Thr Ala Asn Arg Gly Val His Ile Ser Ala Glu Ala cgc att aat gag cgc atc cga gtt ccc gaa gtc cgc ctt gtc gga cct Arg Ile Asn Glu Arg Ile Arg Val Pro Glu Val Arg Leu Val Gly Pro aac ggt gag caa gta ggc atc gtc cgt atc gaa gat gcc cgc aag ctc 259 Asn Gly Glu Gln Val Gly Ile Val Arg Ile Glu Asp Ala Arg Lys Leu 40 gca ttc gac gca gac cta gac ctg gtc gag gtc gca ccc aac gcc aaa 307 Ala Phe Asp Ala Asp Leu Asp Leu Val Glu Val Ala Pro Asn Ala Lys 55 cct cca gtc tgc aag atc atg gac tac gga aag ttc aag tac gaa gcg 355 Pro Pro Val Cys Lys Ile Met Asp Tyr Gly Lys Phe Lys Tyr Glu Ala gcc caa aag gct cgt gag tca cgc aag aat cag cag cag acc gtg gtc 403 Ala Gln Lys Ala Arg Glu Ser Arg Lys Asn Gln Gln Gln Thr Val Val 95 aaa gag caa aag ctt cgt ccc aag atc gat gat cat gat tat gag acg 451 Lys Glu Gln Lys Leu Arg Pro Lys Ile Asp Asp His Asp Tyr Glu Thr 110 aag aag aac aat gtg atc cga ttc ctt gaa aag gga tca aag gtc aaa 499 Lys Lys Asn Asn Val Ile Arg Phe Leu Glu Lys Gly Ser Lys Val Lys 125 gtc acg atc atg ttc cgt ggt cgt gag cag gct cgc cca gag ctt ggc 547 Val Thr Ile Met Phe Arg Gly Arg Glu Gln Ala Arg Pro Glu Leu Gly 140 tac agg ctc ctc gag cga ctg gca aac gat gtc gta gat ttt ggc atc 595 Tyr Arg Leu Leu Glu Arg Leu Ala Asn Asp Val Val Asp Phe Gly Ile 155

gtg gaa acc cgc gca aag cag gac gga cga aac atg aca atg gtt ctc

Val Glu Thr Arg Ala Lys Gln Asp Gly Arg Asn Met Thr Met Val Leu

ggt ccg gtg cgc aag ggc aag aaa taatcacgaa tagggtttaa ggacaacttt

175

170

Gly Pro Val Arg Lys Gly Lys Lys 185

643

<210> 66 <211> 189 <212> PRT <213> Corynebacterium glutamicum

<400> 66 Val Val Arg Tyr Val Lys Phe Ser Arg Thr Ala Asn Arg Gly Val His 5 Ile Ser Ala Glu Ala Arg Ile Asn Glu Arg Ile Arg Val Pro Glu Val 25 Arg Leu Val Gly Pro Asn Gly Glu Gln Val Gly Ile Val Arg Ile Glu Asp Ala Arg Lys Leu Ala Phe Asp Ala Asp Leu Asp Leu Val Glu Val Ala Pro Asn Ala Lys Pro Pro Val Cys Lys Ile Met Asp Tyr Gly Lys Phe Lys Tyr Glu Ala Ala Gln Lys Ala Arg Glu Ser Arg Lys Asn Gln Gln Gln Thr Val Val Lys Glu Gln Lys Leu Arg Pro Lys Ile Asp Asp His Asp Tyr Glu Thr Lys Lys Asn Asn Val Ile Arg Phe Leu Glu Lys 120 Gly Ser Lys Val Lys Val Thr Ile Met Phe Arg Gly Arg Glu Gln Ala 135 Arg Pro Glu Leu Gly Tyr Arg Leu Leu Glu Arg Leu Ala Asn Asp Val 150 155 Val Asp Phe Gly Ile Val Glu Thr Arg Ala Lys Gln Asp Gly Arg Asn Met Thr Met Val Leu Gly Pro Val Arg Lys Gly Lys Lys 180 185 <210> 67 <211> 2419 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(2389) <223> RXA02429 <400> 67 tcttacccac cagtgcaatg taggtcacgt cgtatcacgt ctgagggtga ttgagtaggg 60 ttaaacagat gaattcattt agctcaccgg aggtataacc gtg gcc ggt ttt gat

tgg ttt tgg aag gcc ctt ggc ggc aaa tcg ggc aga aac caa aaa cgt 163
Trp Phe Trp Lys Ala Leu Gly Gly Lys Ser Gly Arg Asn Gln Lys Arg
10 15 20

Val Ala Gly Phe Asp

agc gtg gca att gtc aat cag gta gaa aac cat gca gcg gaa tta gac 211 Ser Val Ala Ile Val Asn Gln Val Glu Asn His Ala Ala Glu Leu Asp 25 30 35

gcg Ala	ctg Leu	gat Asp 40	gat Asp	gtt Val	gca Ala	ttg Leu	gcg Ala 45	cag Gln	cgt Arg	gcc Ala	aag Lys	gat Asp 50	cta Leu	gcc Ala	agt Ser	259
ggt Gly	gga Gly 55	cgc Arg	att Ile	gac Asp	aat Asn	cat His 60	gcg Ala	gaa Glu	ttc Phe	ctc Leu	gcc Ala 65	att Ile	ttg Leu	ggt Gly	gtg Val	307
gca Ala 70	tcg Ser	cag Gln	cgg Arg	aca Thr	ttg Leu 75	ggg Gly	ctg Leu	aag Lys	ccg Pro	tat Tyr 80	ccg Pro	gtg Val	caa Gln	tca Ser	cag Gln 85	355
													gct Ala			403
gag Glu	ggc Gly	aag Lys	act Thr 105	ttg Leu	gtg Val	ggc Gly	gcg Ala	atg Met 110	gcg Ala	gcc Ala	acc Thr	ggt Gly	ctg Leu 115	GJA aaa	ttg Leu	451
													ttg Leu			499
													ggt Gly			547
													cga Arg			595
													ggc Gly			643
													gtg Val 195			691
ggc Gly	gcc Ala	gac Asp 200	gtc Val	gcg Ala	att Ile	atc Ile	gat Asp 205	gag Glu	gcc Ala	gat Asp	tcc Ser	gtg Val 210	ctt Leu	gtc Val	gac Asp	739
													ggc Gly			787
													gaa Glu			835
													acc Thr			883
													ctc Leu 275			931
gat	gag	cac	gtc	ggc	tcg	acg	ctc	gtg	cag	gtc	aac	ctc	gcc	ctc	cac	979

WO 03/040180 PCT/EP02/12138

										1.2.	•					
Asp	Glu	His 280	Val	Gly	Ser	Thr	Leu 285	Val	Gln	Val	Asn	Leu 290	Ala	Leu	His	
gcg Ala	cag Gln 295	gca Ala	ctg Leu	ctc Leu	atc Ile	cgc Arg 300	gac Asp	atc Ile	cac His	tac Tyr	atc Ile 305	gtc Val	cgc Arg	gac A s p	agc Ser	1027
aag Lys 310	gtc Val	ttg Leu	ctt Leu	atc Ile	gac Asp 315	gcc Ala	tcc Ser	cgc Arg	ggc Gly	cgt Arg 320	gtc Val	gcc Ala	gac Asp	ctg Leu	cag Gln 325	1075
cgc Arg	tgg Trp	ccc Pro	gac Asp	ggc Gly 330	ctg Leu	caa Gln	gca Ala	gca Ala	gtg Val 335	gag Glu	gcc Ala	aag Lys	gaa Glu	ggt Gly 340	ctc Leu	1123
gcg Ala	gtt Val	tct Ser	gaa Glu 345	ggc Gly	ggc Gly	aag Lys	atc Ile	ctt Leu 350	gac Asp	acc Thr	atc Ile	aca Thr	ctt Leu 355	cag Gln	gcg Ala	1171
ttg Leu	att Ile	ggt Gly 360	cgc Arg	tac Tyr	cca Pro	atg Met	gca Ala 365	tgc Cys	ggc Gly	atg Met	aca Thr	ggt Gly 370	acc Thr	gcc Ala	gtg Val	1219
gag Glu	gca Ala 375	acc Thr	gat Asp	cag Gln	cta Leu	cgc Arg 380	acc Thr	ttc Phe	tat Tyr	gac A s p	ttg Leu 385	cat His	gtt Val	tct Ser	gtc Val	1267
att Ile 390	gag Glu	cgc Arg	aat Asn	cat His	ccg Pro 395	ctg Leu	aag Lys	cgc Arg	ttt Phe	gat Asp 400	gaa Glu	gct Ala	gac Asp	cgt Arg	atc Ile 405	1315
tac Tyr	gcc Ala	acc Thr	atg Met	gcg Ala 410	gag Glu	aaa Lys	aac Asn	cgc Arg	gcc Ala 415	atc Ile	atc Ile	gat Asp	gaa Glu	atc Ile 420	gca Ala	1363
ctc Leu	ctt Leu	cac His	agc Ser 425	acg Thr	Gly	cag Gln	cca Pro	gtc Val 430	ctg Leu	gtg Val	ggt Gly	acc Thr	cac His 435	gat Asp	gtg Val	1411
gca Ala	gag Glu	tcg Ser 440	Glu	gaa Glu	Leu	Ala	Thr	Ala	Leu	Arg	Glu	Leu	aac Asn	atc Ile	gaa Glu	1459
gta Val	agc Ser 455	gtt Val	ctc Leu	aac Asn	gcc Ala	aag Lys 460	aat Asn	gat Asp	gcc Ala	gaa Glu	gaa Glu 465	gcc Ala	cag Gln	atc Ile	atc Ile	1507
gca Ala 470	gag Glu	gct Ala	ggc Gly	gat Asp	att Ile 475	gga Gly	cga Arg	gtg Val	acc Thr	gtt Val 480	tcc Ser	act Thr	cag Gln	atg Met	gcc Ala 485	1555
	cgc Arg															1603
gat Asp	gaa Glu	gtg Val	gtg Val 505	aaa Lys	ctc Leu	ggt Gly	gga Gly	ctc Leu 510	gcc Ala	gtt Val	atc Ile	ggc Gly	acc Thr 515	gcc Ala	cgc Arg	1651
	cgt Arg															1699
caa	gga	gat	cca	ggc	ctg	agc	ctt	ttc	ttt	gtc	tcc	ctc	gat	gat	gat	1747

WO 03/040180 PO	PCT/EP02/12138
-----------------	----------------

										14.	*					
Gln	Gly 535	Asp	Pro	Gly	Leu	Ser 540	Leu	Phe	Phe	Val	Ser 545	Leu	Asp	Asp	Asp	
					ggg Gly 555											1795
					gac Asp											1843
-	_	-	-		gaa Glu		_	-	_	-				-	_	1891
				_	ctc Leu											1939
					ctc Leu											1987
					cgg Arg 635											2035
					gca Ala											2083
					ctc Leu											2131
					gcc Ala											2179
					ttc Phe											2227
					aag Lys 715											2275
					ttg Leu											2323
-		_			ctt Leu			-						_		2371
			atc Ile		aga Arg	taac	ctga	iga a	ıctat	gaaa	it to	cago	tcac	2		2419

<210> 68 <211> 763 <212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 68

Val Ala Gly Phe Asp Trp Phe Trp Lys Ala Leu Gly Gly Lys Ser Gly
1 5 10 15

Arg Asn Gln Lys Arg Ser Val Ala Ile Val Asn Gln Val Glu Asn His
20 25 30

Ala Ala Glu Leu Asp Ala Leu Asp Asp Val Ala Leu Ala Gln Arg Ala
35 40 45

Lys Asp Leu Ala Ser Gly Gly Arg Ile Asp Asn His Ala Glu Phe Leu 50 55 60

Ala Ile Leu Gly Val Ala Ser Gln Arg Thr Leu Gly Leu Lys Pro Tyr 65 70 75 80

Pro Val Gln Ser Gln Ala Val Leu Arg Leu Ile Glu Gly Asp Val Val
85 90 95

His Met Ala Thr Gly Glu Gly Lys Thr Leu Val Gly Ala Met Ala Ala 100 105 110

Thr Gly Leu Gly Leu Met Gly Lys Arg Val His Ser Ile Thr Val Asn 115 120 125

Asp Tyr Leu Ala Val Arg Asp Ala Glu Trp Met Arg Pro Leu Val Glu 130 135 140

Phe Phe Gly Leu Ser Val Ala Ser Ile Ser Glu Lys Met Asp Ala Gly 145 150 155 160

Glu Arg Arg Gln Ala Tyr Lys Ala Ala Ile Val Tyr Gly Pro Val Asn 165 170 175

Glu Ile Gly Phe Asp Val Leu Arg Asp Gln Leu Ile Thr Arg Arg Glu 180 185 190

Asp Ala Val Gln His Gly Ala Asp Val Ala Ile Ile Asp Glu Ala Asp 195 200 205

Ser Val Leu Val Asp Glu Ala Leu Val Pro Leu Val Leu Ala Gly Asn 210 215 220

Gln Pro Gly His Ala Pro Arg Gly Lys Ile Thr Asp Val Val Arg Ser 225 230 235 240

Leu Lys Glu Asn Asp Asp Tyr Thr Ile Asp Asp Asp Arg Asn Val 245 250 255

Phe Leu Thr Asp Lys Gly Ala Ala Lys Leu Glu Gln Gln Leu Gly Ile 260 265 270

Ser Ser Leu Tyr Asp Asp Glu His Val Gly Ser Thr Leu Val Gln Val 275 280 285

Asn Leu Ala Leu His Ala Gln Ala Leu Leu Ile Arg Asp Ile His Tyr 290 295 300

Ile Val Arg Asp Ser Lys Val Leu Leu Ile Asp Ala Ser Arg Gly Arg 305 310 315 320

Val Ala Asp Leu Gln Arg Trp Pro Asp Gly Leu Gln Ala Ala Val Glu

325 330 335 Ala Lys Glu Gly Leu Ala Val Ser Glu Gly Gly Lys Ile Leu Asp Thr 345 340 Ile Thr Leu Gln Ala Leu Ile Gly Arg Tyr Pro Met Ala Cys Gly Met Thr Gly Thr Ala Val Glu Ala Thr Asp Gln Leu Arg Thr Phe Tyr Asp 370 Leu His Val Ser Val Ile Glu Arg Asn His Pro Leu Lys Arg Phe Asp 390 395 Glu Ala Asp Arg Ile Tyr Ala Thr Met Ala Glu Lys Asn Arg Ala Ile 405 Ile Asp Glu Ile Ala Leu Leu His Ser Thr Gly Gln Pro Val Leu Val 425 Gly Thr His Asp Val Ala Glu Ser Glu Glu Leu Ala Thr Ala Leu Arg Glu Leu Asn Ile Glu Val Ser Val Leu Asn Ala Lys Asn Asp Ala Glu Glu Ala Gln Ile Ile Ala Glu Ala Gly Asp Ile Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Gln Met Ala Gly Arg Gly Thr Asp Ile Arg Leu Gly Gly Ala 490 Asp Glu Ala Asp Tyr Asp Glu Val Lys Leu Gly Gly Leu Ala Val 500 505 Ile Gly Thr Ala Arg His Arg Ser Gln Arg Leu Asp Asn Gln Leu Arg 520 Gly Arg Ala Gly Arg Gln Gly Asp Pro Gly Leu Ser Leu Phe Phe Val 530 Ser Leu Asp Asp Val Val Val Ser Gly Gly Ser Arg Glu Ser Val 550 555 Ser Ala Gln Pro Asp Ala Thr Gly Leu Ile Asp Ser Asp Arg Ile Arg Asp Trp Val Gly His Cys Gln Arg Val Thr Glu Gly Gln Leu Leu Glu 585 Ile His Ser Gln Ser Trp Asn Tyr Asn Lys Leu Leu Ala Asp Gln Arg Val Ile Ile Asp Glu Arg Glu Arg Leu Leu Asp Thr Ala Leu Ala 615 Trp Glu Glu Leu Ala Gln His Ala Pro Ala Arg Ala Ala Glu Leu Glu 630 Asp Leu Asp Gln Ser Val Arg Glu Gln Ala Ala Arg Asp Ile Met Leu 645 650

Tyr His Leu Asp Tyr Asn Trp Ser Glu His Leu Ala Leu Met Asp Asp

665

660

Val Arg Glu Ser Ile His Leu Arg Ala Ile Ala Arg Glu Thr Pro Leu 675 680 685 Asp Glu Tyr His Arg Ile Ala Val Arg Glu Phe Lys Asp Leu Ala Gln 695 Arg Ala Val Asp Asp Ala Val Ser Thr Phe Lys Ser Val Thr Ile Asp 705 710 715 His Glu Gly Ala His Leu Asp Asp Glu Gly Leu Ala Arg Pro Ser Ala 730 Thr Trp Thr Tyr Met Val Ser Asp Asn Pro Leu Ala Gly Ser Gly Asn 750 745 740 Ser Val Ile Ser Gly Ile Gly Asn Ile Phe Arg 760 <210> 69 <211> 1582 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(1552) <223> RXA02431 <400> 69 ggtggctgag cttgtcggca ttgtgctggt tgtcatcgca gttgctttgc gacgcccctc 60 ctagcggttt cccacaccgc cagtcttctc aaactaatcg ttg acc tgt tcg att Leu Thr Cys Ser Ile 163 aac cta att ttc ggc tgg tca act acc ata aaa agc atg caa cgc tgg Asn Leu Ile Phe Gly Trp Ser Thr Thr Ile Lys Ser Met Gln Arg Trp gtg ctt cac atc gat atg gat gcc ttc ttc gca tcc tgc gaa caa ctg 211 Val Leu His Ile Asp Met Asp Ala Phe Phe Ala Ser Cys Glu Gln Leu 30 259 acc cgg ccc act tta aga ggc cgc ccc gtc ttg gtc ggt gga gtc tcc Thr Arg Pro Thr Leu Arg Gly Arg Pro Val Leu Val Gly Gly Val Ser 40 307 ggt agg gga gtt gtc gcc gga gca tcc tat gaa gcc aga aaa ttt ggc Gly Arg Gly Val Val Ala Gly Ala Ser Tyr Glu Ala Arg Lys Phe Gly 60 55 gcc cgc tca gcg atg ccc atg cac caa gcc aaa gcc cga gta ggt ttt 355 Ala Arg Ser Ala Met Pro Met His Gln Ala Lys Ala Arg Val Gly Phe 70 75 403 ggg gca gtg gtg gtg aca ccc cgt cat atc gtt tac tcc gca gcc tcg Gly Ala Val Val Val Thr Pro Arg His Ile Val Tyr Ser Ala Ala Ser 100 90 cgc cgg gtg ttc caa atc gtg gaa aaa cgc gcc gga att gtc gaa cgc 451 Arg Arg Val Phe Gln Ile Val Glu Lys Arg Ala Gly Ile Val Glu Arg 110 105

WO 03/040180 PCT/EP02/12138

											•					
		atc Ile 120														499
		gaa Glu														547
		gtt Val														595
		gcc Ala														643
		cca Pro														691
ggc Gly	gca Ala	ctt Leu 200	tgg Trp	gga Gly	gtg Val	ggt Gly	cct Pro 205	gtg Val	aca Thr	ggc Gly	tcc Ser	aag Lys 210	ctt Leu	gcc Ala	tca Ser	739
		gtg Val														787
		atc Ile														835
		gga Gly														883
		tcc Ser														931
		gat Asp 280														979
ctc Leu	ctc Leu 295	aaa Lys	gac Asp	gga Gly	cgc Arg	ggt Gly 300	gcc Ala	aga Arg	act Thr	gtc Val	agc Ser 305	gtg Val	aaa Lys	ctg Leu	cgg Arg	1027
		gac Asp														1075
		gat Asp														1123
		gga Gly														1171
		gaa Glu 360														1219

	WO	03/04	10180							129	9 -				PCI	I/EP02/12
						gca Ala 380									gtg Val	1267
						gaa Glu										1315
						tgc Cys										1363
						caa Gln										1411
						acc Thr										1459
						acc Thr 460										1507
						gaa Glu										1552
<210 <211 <212)> 7(_> 48 ?> PF) 34 RT				ggtgo										1582
)> 7(Thr		Ser	Ile 5	Asn	Leu	Ile	Phe	Gly 10	Trp	Ser	Thr	Thr	Ile 15	Lys	
Ser	Met	Gln	Arg 20	Trp	Val	Leu	His	Ile 25	Asp	Met	Asp	Ala	Phe 30	Phe	Ala	
Ser	Cys	Glu 35	Gln	Leu	Thr	Arg	Pro 40	Thr	Leu	Arg	Gly	Arg 45	Pro	Val	Leu	
Val	Gly 50	Gly	Val	Ser	Gly	Arg 55	Gly	Val	Val	Ala	Gly 60	Ala	Ser	Tyr	Glu	
Ala 65	Arg	Lys	Phe	Gly	Ala 70	Arg	Ser	Ala	Met	Pro 75	Met	His	Gln	Ala	80 Lys	
Ala	Arg	Val	Gly	Phe 85	Gly	Ala	Val	Val	Val 90	Thr	Pro	Arg	His	Ile 95	Val	

Tyr Ser Ala Ala Ser Arg Arg Val Phe Gln Ile Val Glu Lys Arg Ala 100 105 110

Gly Ile Val Glu Arg Leu Ser Ile Asp Glu Gly Phe Met Glu Pro Glu

Ala Leu Val Gly Ala Thr Pro Glu Glu Val Lys Gln Trp Ala Glu Glu

125

120

115

135 130 140 Leu Arg Ala Glu Ile Lys Glu Val Thr Gly Leu Pro Ser Ser Val Gly 145 150 155 Ala Gly Ser Gly Lys Gln Ile Ala Lys Ile Gly Ser Gly Glu Ala Lys 165 Pro Asp Gly Val Phe Val Val Pro Val Asp Lys Gln His Asp Leu Leu 180 185 Asp Pro Leu Pro Val Gly Ala Leu Trp Gly Val Gly Pro Val Thr Gly Ser Lys Leu Ala Ser Met Gly Val Glu Thr Ile Gly Asp Leu Ala Ala 210 215 Leu Thr Gln Lys Glu Val Glu Ile Ser Leu Gly Ala Thr Ile Gly Ile 235 Ser Leu Trp Asn Leu Ala Arg Gly Ile Asp Asp Arg Pro Val Glu Pro 245 Arg Ala Glu Ala Lys Gln Ile Ser Gln Glu His Thr Tyr Glu Lys Asp 265 Leu Leu Thr Arg Gln Gln Val Asp Ala Ala Ile Ile Arg Ser Ala Glu Gly Ala His Arg Arg Leu Leu Lys Asp Gly Arg Gly Ala Arg Thr Val 295 Ser Val Lys Leu Arg Met Ala Asp Phe Arg Ile Glu Ser Arg Ser Tyr Thr Leu Ser Tyr Ala Thr Asp Asp Tyr Ala Thr Leu Glu Ala Thr Ala Phe Arg Leu Ala Arg Tyr Pro Gly Glu Val Gly Pro Ile Arg Leu Val Gly Val Ser Phe Ser Gly Leu Glu Glu Ser Arg Gln Asp Ile Leu Phe 360 Pro Glu Leu Asp Gln Gln Ile Ile Val Pro Pro Ala Pro Asp Thr Asp 375 370 Tyr Glu Val Gly Val Gln Ser Ser Ser Ser Ser Glu Ser Thr Gln Val 390 395 Glu Ala Pro Gln Asp Val Ala Leu Ser Met Trp Cys Ala Thr Gln Asp 405 410 Val Tyr His Pro Glu Tyr Gly His Gly Trp Val Gln Gly Ala Gly His 425 Gly Val Val Ser Val Arg Phe Glu Thr Arg Ser Thr Thr Lys Gly Arg 435 Thr Lys Ser Phe Ser Met Asp Asp Pro Asp Leu Thr Pro Ala Asp Pro 455 Leu Asp Ser Leu Asp Trp Ala Asp Trp Phe Ala Glu Asn Gly Glu Thr

470

475

Gly Asp Asp Glu

<211 <212)> 71 L> 18 2> DI 3> Co	319 NA	ebact	teriu	ım g:	Lutar	nicur	m								
<222)> L> CI 2> (1 3> R)	L01)		789)												
)> 71 ataaa		gacgo	ctcto	ca gt	gtag	gaaad	c tga	agggt	cctc	agt	gaagt	cag a	actga	acaggg	60
atac	cctaa	ata (egtti	caata	ag at	tgtg	gggg	c act	cgc	cacc		_		ttc Phe	_	115
														gat Asp 20		163
acc Thr	gta Val	gaa Glu	gtg Val 25	aaa Lys	tct Ser	tgg Trp	ggt Gly	cgg Arg 30	tta Leu	cct Pro	tta Leu	agc Ser	aaa Lys 35	gga Gly	tca Ser	211
aaa Lys	agc Ser	ttc Phe 40	tgg Trp	gaa Glu	tca Ser	tta Leu	agc Ser 45	gca Ala	ttc Phe	gca Ala	aac Asn	acc Thr 50	aac Asn	ggt Gly	gga Gly	259
														gaa Glu		307
														aat Asn		355
														gaa Glu 100		403
														gtc Val		451
														atc Ile		499
														agt Ser		547
														aca Thr		595
														cag Gln		643

WO 03/040180 PCT/EP02/12138 qcg qcg tca ttt aag cag cqc cta att gag tca aat agt cgc tcc ctt Ala Ala Ser Phe Lys Gln Arg Leu Ile Glu Ser Asn Ser Arg Ser Leu gga aca gac gat aac tgg tta ctg cgc aaa aat atc act aca tca aag Gly Thr Asp Asp Asn Trp Leu Leu Arg Lys Asn Ile Thr Thr Ser Lys gga gaa ctg acg att gct ggc tta ctg gct ctc gga agc tat cct caa Gly Glu Leu Thr Ile Ala Gly Leu Leu Ala Leu Gly Ser Tyr Pro Gln cag ttt ttc ccc cga gtg atc att gat gtt gcc gta cat cca ggt ctg

Gln Phe Phe Pro Arg Val Ile Ile Asp Val Ala Val His Pro Gly Leu cat aag tca cca atc ggt acc tca att cgt ttt gaa gac cga aaa atc His Lys Ser Pro Ile Gly Thr Ser Ile Arg Phe Glu Asp Arg Lys Ile tgc gag gga aat ctt ctc gag atg gtt caa gag gct atg tct gcc atc Cys Glu Gly Asn Leu Leu Glu Met Val Gln Glu Ala Met Ser Ala Ile aaa cga aac cta cgt gta cgc cgc gtc gtt gaa gga ctc tca ggt aaa Lys Arg Asn Leu Arg Val Arg Val Val Glu Gly Leu Ser Gly Lys gat gtt cta gaa atc cca gaa gaa gtt ttg aga gag gct cta gca aac Asp Val Leu Glu Ile Pro Glu Glu Val Leu Arg Glu Ala Leu Ala Asn gcc gta ctt cac cgt gat tat tct gag cta gct caa aat gaa gca att Ala Val Leu His Arg Asp Tyr Ser Glu Leu Ala Gln Asn Glu Ala Ile cat gta gac atc tat aag gat cga gtt gag atc acg agt cca ggt gga His Val Asp Ile Tyr Lys Asp Arg Val Glu Ile Thr Ser Pro Gly Gly tta ccc aat ggt aaa cgc cca gag tca ata ctg gac gga tac tct gaa Leu Pro Asn Gly Lys Arg Pro Glu Ser Ile Leu Asp Gly Tyr Ser Glu cca aga aat cgt gtg ctt tca aga atc cta atg gat att cca tgg aca Pro Arg Asn Arg Val Leu Ser Arg Ile Leu Met Asp Ile Pro Trp Thr cat gaa gta caa gga gta ctt gct gaa agc aac ggt act ggc gtt ccc His Glu Val Gln Gly Val Leu Ala Glu Ser Asn Gly Thr Gly Val Pro cga atg ttc aat ttg atg cgt gaa gcg gga ctt ccg gta ccg aat ttt Arg Met Phe Asn Leu Met Arg Glu Ala Gly Leu Pro Val Pro Asn Phe aag att gat att tot agc gtc act gtc gaa ctc agc cgt cac ggt ctt Lys Ile Asp Ile Ser Ser Val Thr Val Glu Leu Ser Arg His Gly Leu cta gat gcc caa aca agt gaa tgg ctt gta gaa aaa ctc gga tca gat

	wo	03/04	0180							133	3				PCT	I/EP02/1
Leu	Asp	Ala	Gln 425	Thr	Ser	Glu	Trp	Leu 430	Val	Glu	Lys	Leu	Gly 435	Ser	Asp	
					ggc Gly											1459
					gat Asp											1507
					ctt Leu 475											1555
			_		caa Gln											1603
					gaa Glu											1651
					att Ile											1699
					cgt Arg											1747
	-				agc Ser 555	-		-								1789
tgad	ccac	ca a	acgaa	actca	ac Cg	gtgt	cago	2								1819
<211 <212)> 72 L> 56 B> PF	3 RT	ebact	eri	ım g]	Lutar	nícur	n								
)> 72 Glu		Phe	Glu 5	Leu	Glu	Lys	Asp	Leu 10	Glu	Arg	Leu	Arg	Lys 15	Asn	
Gly	Lys	Asp	Asp 20	Glu	Thr	Val	Glu	Val 25	Lys	Ser	Trp	Gly	Arg 30	Leu	Pro	
Leu	Ser	Lys 35	Gly	Ser	Lys	Ser	Phe 40	Trp	Glu	Ser	Leu	Ser 45	Ala	Phe	Ala	
7 an		λαn	Gly	Clv.	Пътъ-	т1 о	T.OU	T.OU	Gl _W	T.an	Sor	Gli	Dro	λen	Dha	

Ala Gly Leu Asn Pro Gln Asp Arg Asp Ala Gln Lys Val Glu Pro Val \cdot 85 90 95

Pro His His Glu Ile His Glu Met Thr Val Asp Gly Ala Glu Val Val

110 100 105 Leu Val Ser Val Ser Pro Leu Ser Val Asn Gly Pro Cys Tyr Tyr Leu 125 120 Pro Val Gly Ile Thr Asn Gly Ser Phe Lys Arg Val Gly Asp Glu Asp 135 Arg Lys Leu Ser His Leu Glu Ile Tyr Glu Leu Gln Asn Arg Phe Val Gln Thr Lys Thr Asp Arg Asn Pro Val Pro Asp Ser Ser Ile Asp Asp Leu Asn Asn Gln Leu Ala Ala Ser Phe Lys Gln Arg Leu Ile Glu Ser 185 190 Asn Ser Arg Ser Leu Gly Thr Asp Asp Asn Trp Leu Leu Arg Lys Asn 200 Ile Thr Thr Ser Lys Gly Glu Leu Thr Ile Ala Gly Leu Leu Ala Leu 215 220 Gly Ser Tyr Pro Gln Gln Phe Phe Pro Arg Val Ile Ile Asp Val Ala 235 Val His Pro Gly Leu His Lys Ser Pro Ile Gly Thr Ser Ile Arg Phe 250 Glu Asp Arg Lys Ile Cys Glu Gly Asn Leu Leu Glu Met Val Gln Glu 265 Ala Met Ser Ala Ile Lys Arg Asn Leu Arg Val Arg Arg Val Val Glu 280 285 275 Gly Leu Ser Gly Lys Asp Val Leu Glu Ile Pro Glu Glu Val Leu Arg 295 Glu Ala Leu Ala Asn Ala Val Leu His Arg Asp Tyr Ser Glu Leu Ala 315 310 305 Gln Asn Glu Ala Ile His Val Asp Ile Tyr Lys Asp Arg Val Glu Ile Thr Ser Pro Gly Gly Leu Pro Asn Gly Lys Arg Pro Glu Ser Ile Leu Asp Gly Tyr Ser Glu Pro Arg Asn Arg Val Leu Ser Arg Ile Leu Met Asp Ile Pro Trp Thr His Glu Val Gln Gly Val Leu Ala Glu Ser Asn Gly Thr Gly Val Pro Arg Met Phe Asn Leu Met Arg Glu Ala Gly Leu Pro Val Pro Asn Phe Lys Ile Asp Ile Ser Ser Val Thr Val Glu Leu Ser Arg His Gly Leu Leu Asp Ala Gln Thr Ser Glu Trp Leu Val Glu 425 Lys Leu Gly Ser Asp Phe Ser Asn Thr Gln Gly Ile Ala Leu Val Leu 435 440 445

Ala Lys Glu Leu Gly Ala Val Thr Ser Arg Asp Leu Arg Asn Gln Thr 455 450 Gly His Asp Ser Glu Asp Met Arg Ser Leu Leu Asp Ala Leu Val Asp Arg Gly Val Leu Asn Gln Asn Leu Gln Asn Gln Tyr Gln Leu Ala Thr Ser Ser Val Asn Val Thr Gln Ser Glu Gln Glu Val Leu Asp Ala Ile 505 Asn Lys Thr Thr Pro Val Thr Ile Arg Glu Ile Ala Thr Lys Thr Gly 520 Lys Thr Ala Ser Ser Leu Arg Pro Leu Leu Arg Gly Leu Val Glu Ala 535 Gly Leu Val Val Ala Thr Ala Pro Pro Ser Ser Arg Asn Arg Ala Tyr 555 550 Leu Lvs Ala <210> 73 <211> 1009 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(979) <223> RXA02476 <400> 73 cgggcggagt tctatcaaca ttacgcaaag gcataagctt tattattcca ctcggtgtga 60 catatgacct aaagtgccag tcagtacaat catttaggtc atg tca ttt aca gct 115 Met Ser Phe Thr Ala ttt caa aca gcc ctg ctc gtg tgg ttt aga gca aat gcc cgc gat ctt 163 Phe Gln Thr Ala Leu Leu Val Trp Phe Arg Ala Asn Ala Arg Asp Leu 15 10 gcg tgg cgt gat ccc aat act tca gca tgg gga att ctc ctt tca gag 211 Ala Trp Arg Asp Pro Asn Thr Ser Ala Trp Gly Ile Leu Leu Ser Glu 30 25 gtg atg agc caa caa act ccc gtc gcg cga gtc gag ccg att tgg cgt 259 Val Met Ser Gln Gln Thr Pro Val Ala Arg Val Glu Pro Ile Trp Arg 40 45 307 gag tgg atg gaa aaa tgg ccc act ccg gaa gat ttc gcg aat gcg agc Glu Trp Met Glu Lys Trp Pro Thr Pro Glu Asp Phe Ala Asn Ala Ser 55 acc gat gag att ttg cgg tcg tgg ggc aag ttg ggc tat cca cgt agg 355 Thr Asp Glu Ile Leu Arg Ser Trp Gly Lys Leu Gly Tyr Pro Arg Arg 75 70 gcg ctg agg ttg aag gaa tgt gcg gag gtg atc gtc gaa aag cat gcc 403

	WO	03/04	0180							136	5 .				PC	1/EP02/1
Ala	Leu	Arg	Leu	Lys 90	Glu	Cys	Ala	Glu	Val 95	Ile	Val	Glu	Lys	His 100	Ala	
ggc Gly	gag Glu	gtg Val	ccg Pro 105	gat Asp	acg Thr	gtg Val	gag Glu	gcg Ala 110	ctg Leu	ctc Leu	gcg Ala	ttg Leu	ccg Pro 115	ggg Gly	atc Ile	451
ggt Gly	gat Asp	tac Tyr 120	acg Thr	gcg Ala	cgc Arg	gcg Ala	gtc Val 125	gcg Ala	gcg Ala	ttt Phe	cat His	ttt Phe 130	Gly	cag Gln	cgc Arg	499
ġtg Val	ccg Pro 135	gtg Val	gtc Val	gat Asp	acg Thr	aac Asn 140	gtg Val	cgt Arg	cgc Arg	gtg Val	tac Tyr 145	cag Gln	cgc Arg	gcg Ala	gta Val	547
gcc Ala 150	gga Gly	cgt Arg	tac Tyr	ctt Leu	gcg Ala 155	Gly	cct Pro	gcg Ala	aaa Lys	aag Lys 160	caa Gln	gag Glu	ctt Leu	atc Ile	gac Asp 165	595
gtc Val	tcc Ser	ctt Leu	ctc Leu	ctt Leu 170	ccc Pro	aac Asn	act Thr	cac His	gcc Ala 175	cca Pro	gaa Glu	ttc Phe	tct Ser	gcc Ala 180	gca Ala	643
ata Ile	atg Met	gag Glu	ttg Leu 185	ggt Gly	gct Ala	ctt Leu	atc Ile	tgc Cys 190	acg Thr	gcc Ala	act Thr	tcc Ser	cca Pro 195	aag Lys	tgt Cys	6,91
gac Asp	acc Thr	tgc Cys 200	cca Pro	ctg Leu	ctt Leu	gac Asp	cag Gln 205	tgt Cys	caa Gln	tgg Trp	caa Gln	aaa Lys 210	ctt Leu	ggc Gly	tgt Cys	739
ccc Pro	tcc Ser 215	ccg Pro	agt Ser	gaa Glu	gag Glu	gag Glu 220	ctg Leu	gct Ala	tca Ser	gcg Ala	aaa Lys 225	aag Lys	cgt Arg	gtg Val	cag Gln	787
aaa Lys 230	ttt Phe	gtg Val	gga Gly	acc Thr	gac Asp 235	cga Arg	caa Gln	gtc V al	cgt Arg	ggc Gly 240	cta Leu	atc Ile	atg Met	gac Asp	gta Val 245	835
ctg Leu	cgc Arg	aat Asn	gcc Ala	acc Thr 250	gca Ala	cct Pro	gtg Val	cca Pro	cta Leu 255	tcc Ser	gcg Ala	att Ile	gat Asp	gtc Val 260	gtg Val	883
tgg Trp	cct Pro	gac Asp	gat Asp 265	gcc Ala	caa Gln	cgc Arg	tcc Ser	cgg Arg 270	gcg Ala	ctg Leu	ttt Phe	tcg Ser	ctc Leu 275	att Ile	gag Glu	931
gac Asp	gga Gly	ctc Leu 280	gcg Ala	gaa Glu	caa Gln	aat Asn	gag Glu 285	gcg Ala	ggt Gly	tat Tyr	ttc Phe	cac His 290	ctg Leu	cca Pro	cgg Arg	979
taaa	accad	ctg d	ggg	cctg	ca a	aaaa	cagta	a								1009

<210> 74

<211> 293

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

Met Ser Phe Thr Ala Phe Gln Thr Ala Leu Leu Val Trp Phe Arg Ala 1 5

Asn Ala Arg Asp Leu Ala Trp Arg Asp Pro Asn Thr Ser Ala Trp Gly 20 25 30

Ile Leu Ser Glu Val Met Ser Gln Gln Thr Pro Val Ala Arg Val
35 40 45

Glu Pro Ile Trp Arg Glu Trp Met Glu Lys Trp Pro Thr Pro Glu Asp 50 55 60

Phe Ala Asn Ala Ser Thr Asp Glu Ile Leu Arg Ser Trp Gly Lys Leu 65 70 75 80

Gly Tyr Pro Arg Arg Ala Leu Arg Leu Lys Glu Cys Ala Glu Val Ile 85 90 95

Val Glu Lys His Ala Gly Glu Val Pro Asp Thr Val Glu Ala Leu Leu 100 105 110

Ala Leu Pro Gly Ile Gly Asp Tyr Thr Ala Arg Ala Val Ala Ala Phe 115 120 125

His Phe Gly Gln Arg Val Pro Val Val Asp Thr Asn Val Arg Arg Val 130 135 140

Tyr Gln Arg Ala Val Ala Gly Arg Tyr Leu Ala Gly Pro Ala Lys Lys 145 150 155 160

Gln Glu Leu Ile Asp Val Ser Leu Leu Pro Asn Thr His Ala Pro 165 170 175

Glu Phe Ser Ala Ala Ile Met Glu Leu Gly Ala Leu Ile Cys Thr Ala 180 185 190

Thr Ser Pro Lys Cys Asp Thr Cys Pro Leu Leu Asp Gln Cys Gln Trp
195 200 205

Gln Lys Leu Gly Cys Pro Ser Pro Ser Glu Glu Leu Ala Ser Ala 210 215 220

Lys Lys Arg Val Gln Lys Phe Val Gly Thr Asp Arg Gln Val Arg Gly
225 230 235 240

Leu Ile Met Asp Val Leu Arg Asn Ala Thr Ala Pro Val Pro Leu Ser 245 250 255

Ala Ile Asp Val Val Trp Pro Asp Asp Ala Gln Arg Ser Arg Ala Leu 260 265 270

Phe Ser Leu Ile Glu Asp Gly Leu Ala Glu Gln Asn Glu Ala Gly Tyr 275 280 285

Phe His Leu Pro Arg 290

<210> 75

<211> 3319

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(3289)

<223> RXA02726

<400> 75 ttgtgtcaac gaagtggagc tagttaattt agctcaagct gggtggtacc gcgtccgttt 6	0
tttagggcgt ccccgcaggt agaacgataa ttattgttac ttg cgt gaa gga tgg 1 Leu Arg Glu Gly Trp 1 5	15
gac cga aca cac atg tct gaa gcc gtt ggc gga gtt tac cca cag gtt 1 Asp Arg Thr His Met Ser Glu Ala Val Gly Gly Val Tyr Pro Gln Val 10 15 20	.63
gat tta tct ggt ggg tca tcc aga ttt cca gag atg gaa gag aat gta 2 Asp Leu Ser Gly Gly Ser Ser Arg Phe Pro Glu Met Glu Glu Asn Val 25 30 35	11
ctg agc tac tgg aag aag gat gac acc ttc cag gcc agc atc gat cag 2 Leu Ser Tyr Trp Lys Lys Asp Asp Thr Phe Gln Ala Ser Ile Asp Gln 40 45 50	159
cgc gat ggt gct gaa gac tac gtc ttt tac gat ggc cct cct ttt gca 3 Arg Asp Gly Ala Glu Asp Tyr Val Phe Tyr Asp Gly Pro Pro Phe Ala 55 60 65	07
aac ggt ctg cca cac tac ggc cac cta ctg act ggt tac gtc aag gac 3 Asn Gly Leu Pro His Tyr Gly His Leu Leu Thr Gly Tyr Val Lys Asp 70 75 80 85	55
att gtt cct cgc tac cag acc atg cgt ggc tac cgc gtt cct cgt gtc 4 Ile Val Pro Arg Tyr Gln Thr Met Arg Gly Tyr Arg Val Pro Arg Val 90 95 100	.03
ttc ggt tgg gat acc cac ggt ctg cca gct gaa ctt gag gct gaa aag Phe Gly Trp Asp Thr His Gly Leu Pro Ala Glu Leu Glu Ala Glu Lys 105 . 110 . 115	51
cag ctc ggc atc aag gac aag ggc gag atc gag gcc atg ggt ctt gcc 4. Gln Leu Gly Ile Lys Asp Lys Gly Glu Ile Glu Ala Met Gly Leu Ala 120 125 130	99
aag ttc aac gag tac tgt gca acc tcc gtg ttg cag tac acc aag gaa 5. Lys Phe Asn Glu Tyr Cys Ala Thr Ser Val Leu Gln Tyr Thr Lys Glu 135 140 145	47
tgg gaa gag tac gtc acc cgc cag gct cgt tgg gtg gac ttt gaa aac 5. Trp Glu Glu Tyr Val Thr Arg Gln Ala Arg Trp Val Asp Phe Glu Asn 150 165	95
ggc tac aag acc atg gac ctt tct ttc atg gag tcc gtg atc tgg gcg Gly Tyr Lys Thr Met Asp Leu Ser Phe Met Glu Ser Val Ile Trp Ala 170 175 180	43
ttc aag gaa ctc tac gac aag ggc ctg atc tac cag ggt ttc cgc gtt Phe Lys Glu Leu Tyr Asp Lys Gly Leu Ile Tyr Gln Gly Phe Arg Val 185 190 195	91
ctt cct tac tcc tgg gca gag cac acc cca ctg tcc aac cag gaa acc Leu Pro Tyr Ser Trp Ala Glu His Thr Pro Leu Ser Asn Gln Glu Thr 200 205 210	39
cga ctg gat gac tcc tac aag ctg cgc cag gat cca acc ctg acc gtc 78 Arg Leu Asp Asp Ser Tyr Lys Leu Arg Gln Asp Pro Thr Leu Thr Val 215 220 225	87
acg ttc cca gtc acc ggt gtc gtc gaa ggt tct tct gca aac gct ggc 83	35

Thr 230	Phe	Pro	Val	Thr	Gly 235	Val	Val	Glu	Gly	Ser 240	Ser	Ala	Asn	Ala	Gly 245	
														acc Thr 260		883
														gca Ala		931
														cgt Arg		979
														ggt Gly		1027
														gga Gly		1075
														gga Gly 340		1123
														ggt Gly		1171
														tgt Cys		1219
														aag Lys		1267
														gcc Ala		1315
														cgc Arg 420		1363
														gag Glu		1411
														gaa Glu		1459
														cca Pro		1507
		-	_					_			_		_	cgc Arg		1555
tgg	aac	atc	tcc	cgt	tcc	cgt	tac	tgg	ggt	tca	cca	att	cca	gca	tgg	1603

											•					
Trp	Asn	Ile	Ser	Arg 490	Ser	Arg	Tyr	Trp	Gly 495	Ser	Pro	Ile	Pro	Ala 500	Trp	
gtc Val	tcc Ser	gac Asp	aac Asn 505	gac Asp	gaa Glu	tac Tyr	cca Pro	cgc Arg 510	gtt Val	gat Asp	gtt Val	tat Tyr	ggt Gly 515	tcc Ser	ctc Leu	1651
gat Asp	gag Glu	ctt Leu 520	gag Glu	gct Ala	gac Asp	ttt Phe	ggc Gly 525	gtg Val	cgt Arg	cca Pro	aag Lys	tcc Ser 530	ctg Leu	cac His	cgt Arg	1699
cca Pro	gac Asp 535	atc Ile	gat Asp	gaa Glu	cta Leu	act Thr 540	cgt Arg	cca Pro	aac Asn	cca Pro	gac Asp 545	gat Asp	cca Pro	acc Thr	ggc Gly	1747
aag Lys 550	tcc Ser	acc Thr	atg Met	cga Arg	cgc Arg 555	gtc Val	acc Thr	gat Asp	gtt Val	ttg Leu 560	gac Asp	gtg Val	tgg Trp	ttc Phe	gac Asp 565	1795
tcc Ser	ggt Gly	tcc Ser	atg Met	ccg Pro 570	ttt Phe	gcc Ala	cag Gln	gtg Val	cac His 575	tac Tyr	cca Pro	ttc Phe	gag Glu	aac Asn 580	aaa Lys	1843
gaa Glu	tgg Trp	ttt Phe	gat Asp 585	acc Thr	cac His	gca Ala	cca Pro	gca Ala 590	gac Asp	ttc Phe	atc Ile	gtg Val	gag Glu 595	tac Tyr	atc Ile	1891
				ggt Gly												1939
ctg Leu	ttt Phe 615	gac Asp	cgc Arg	cca Pro	gct Ala	ttc Phe 620	aag Lys	aag Lys	gtt Val	gtc Val	gca Ala 625	cac His	ggc Gly	atc Ile	gtc Val	1987
ttg Leu 630	ggt Gly	gat Asp	gac Asp	gga Gly	ctg Leu 635	aag Lys	atg Met	tcc Ser	aag Lys	tcc Ser 640	aag Lys	ggc Gly	aac Asn	tac Tyr	ccg Pro 645	2035
				gtc Val 650	Phe		Arg	Asp	Gly							2083
				tcc Ser												2131
				cgc Arg												2179
				ttc Phe												2227
				act Thr												2275
				gca Ala 730											att Ile [.]	2323
gca	aag	gct	tgc	gac	ttg	gtt	cgt	aac	ttc	tgt	gat	gcg	ttg	acc	aac	2371

			, 100							14	T					
Ala	. Lys	Ala	Cys 745		Leu	. Val	Arg	750		суз	Asp	Ala	Let 755		Asn	
tgg Trp	tac Tyr	gtg Val 760	Arg	cgt Arg	tcc Ser	cgc	gac Asp 765	Arg	ttc Phe	tgg Trp	gct Ala	ggt Gly 770	Asp	gaa Glu	gca Ala	2419
cac His	cca Pro 775	gag Glu	gct Ala	ttc Phe	aac Asn	acc Thr 780	Leu	tac Tyr	acc Thr	gtg Val	ctg Leu 785	Glu	acc Thr	ctc Leu	acc Thr	2467
cgc Arg 790	gtg Val	gca Ala	gct Ala	cca Pro	ctg Leu 795	ctg Leu	cca Pro	atg Met	acc Thr	acc Thr 800	Glu	gtg Val	ato Ile	tgg Trp	cgt Arg 805	2515
gga Gly	ctg Leu	acc Thr	ggc	gag Glu 810	cgt Arg	tct Ser	gtg Val	cac His	ctg Leu 815	act Thr	gat Asp	ttc Phe	cca Pro	Ser 820	gct Ala	2563
gag Glu	tct Ser	ttc Phe	cca Pro 825	gca Ala	gat Asp	gct Ala	gat Asp	ttg Leu 830	gtt Val	cgc Arg	acc Thr	atg Met	gat Asp 835	gag Glu	atc Ile	2611
cgt Arg	ggc Gly	gtg Val 840	tgc Cys	tct Ser	gcg Ala	gct Ala	tcc Ser 845	tct Ser	gtt Val	cgt Arg	aag Lys	gct Ala 850	cac His	aag Lys	ctg Leu	2659
				cca Pro												2707
gct Ala 870	cgc Arg	ctg Leu	gca Ala	gac Asp	ttc Phe 875	gct Ala	tcg Ser	atc Ile	atc Ile	cgc Arg 880	gat Asp	gag Glu	gtc Val	aac Asn	gtg Val 885	2755
				ctg Leu 890												2803
				gct Ala		Val	Ala	Gly	Pro	Arg	Leu	Gly	Lys	Asp		2851
cag Gln	cgc Arg	gtg Val 920	atc Ile	aag Lys	gct Ala	gtg Val	aag Lys 925	gct Ala	ggc Gly	aac Asn	tac Tyr	acc Thr 930	cgc Arg	gaa Glu	Gly	2899
gac Asp	gtc Val 935	gtt Val	gtt Val	gcc Ala	gat Asp	ggc Gly 940	atc Ile	gag Glu	ctc Leu	aac Asn	gag Glu 945	ggt Gly	gaa Glu	ttc Phe	acc Thr	2947
gag Glu 950	cgt Arg	ctc Leu	gta Val	gca Ala	gca Ala 955	aac Asn	cct Pro	gat Asp	tcc Ser	acc Thr 960	gcg Ala	cag Gln	atc Ile	gac Asp	ggc Gly 965	2995
gtg Val	gat Asp	gga Gly	ctc Leu	gtg Val 970	gtt Val	ctg Leu	gac Asp	Met	gaa Glu 975	gtc Val	acg Thr	gaa Glu	gaa Glu	ctt Leu 980	gaa Glu	3043
gca Ala	gaa Glu	${ t Gly}$	tgg Trp 985	gca Ala	gcg Ala	gac Asp	Ala	atc Ile 990	cgt Arg	ggc Gly	ctg Leu	cag Gln	gat Asp 995	gct Ala	cga Arg	3091
aag	aac	tcc	ggc	ttt	gag	gtt	tct	gac	cgc	att	tct	gtt	gtc	gtc	agc	3139

Lys Asn Ser Gly Phe Glu Val Ser Asp Arg Ile Ser Val Val Val Ser 1005 gtt cet gag gac aag aag gaa tgg atc acc act cac get gat cac atc 3187 Val Pro Glu Asp Lys Lys Glu Trp Ile Thr Thr His Ala Asp His Ile 1015 1020 gca gcg gaa gtt ttg gca acc tcc ttt gag atc gtc act gat gcc ctc Ala Ala Glu Val Leu Ala Thr Ser Phe Glu Ile Val Thr Asp Ala Leu 1040 1030 1035 gac ggc gaa acc cac gac att gtc gct ggt gtg acc gcg aag gtt act Asp Gly Glu Thr His Asp Ile Val Ala Gly Val Thr Ala Lys Val Thr 1050 1055 3319 aag aac taagagttgt tttgttgaga aagcccgctg Lys Asn

<210> 76

<211> 1063

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 76

Leu Arg Glu Gly Trp Asp Arg Thr His Met Ser Glu Ala Val Gly Gly
1 5 10 15

Val Tyr Pro Gln Val Asp Leu Ser Gly Gly Ser Ser Arg Phe Pro Glu 20 25 30

Met Glu Glu Asn Val Leu Ser Tyr Trp Lys Lys Asp Asp Thr Phe Gln 35 40 45

Ala Ser Ile Asp Gln Arg Asp Gly Ala Glu Asp Tyr Val Phe Tyr Asp 50 55 60

Gly Pro Pro Phe Ala Asn Gly Leu Pro His Tyr Gly His Leu Leu Thr 65 70 75 80

Gly Tyr Val Lys Asp Ile Val Pro Arg Tyr Gln Thr Met Arg Gly Tyr 85 90 95

Arg Val Pro Arg Val Phe Gly Trp Asp Thr His Gly Leu Pro Ala Glu
100 105 110

Leu Glu Ala Glu Lys Gln Leu Gly Ile Lys Asp Lys Gly Glu Ile Glu 115 120 125

Ala Met Gly Leu Ala Lys Phe Asn Glu Tyr Cys Ala Thr Ser Val Leu 130 135 140

Gln Tyr Thr Lys Glu Trp Glu Glu Tyr Val Thr Arg Gln Ala Arg Trp
145 150 155 160

Val Asp Phe Glu Asn Gly Tyr Lys Thr Met Asp Leu Ser Phe Met Glu 165 170 175

Ser Val Ile Trp Ala Phe Lys Glu Leu Tyr Asp Lys Gly Leu Ile Tyr 180 185 190

Gln Gly Phe Arg Val Leu Pro Tyr Ser Trp Ala Glu His Thr Pro Leu

143 205 195 200 Ser Asn Gln Glu Thr Arg Leu Asp Asp Ser Tyr Lys Leu Arg Gln Asp 215 220 Pro Thr Leu Thr Val Thr Phe Pro Val Thr Gly Val Val Glu Gly Ser 230 235 Ser Ala Asn Ala Gly Leu Val Gly Ala Leu Ala Leu Ala Trp Thr Thr 245 250 Thr Pro Trp Thr Leu Pro Ser Asn Leu Ala Leu Ala Val Asn Pro Ala 265 Val Thr Tyr Ala Leu Val Glu Val Ala Glu Asp Gly Glu Ala Glu Phe 275 280 Val Gly Lys Arg Val Leu Leu Ala Lys Asp Leu Val Gly Ser Tyr Ala 295 Lys Glu Leu Gly Ala Glu Ala Val Ile Val Ser Glu His Pro Gly Ser 315 305 310 Glu Leu Val Gly Leu Thr Tyr Glu Pro Ile Phe Gly Tyr Phe Arg Asp 330 His Ala Asn Gly Phe Gln Ile Leu Gly Ala Glu Tyr Val Thr Thr Glu 345 Asp Gly Thr Gly Ile Val His Gln Ala Pro Ala Phe Gly Glu Asp Asp 360 Met Asn Thr Cys Asn Ala Ala Gly Ile Glu Pro Val Ile Pro Val Asp 375 Ile Asp Gly Lys Phe Thr Gly Leu Val Pro Glu Tyr Gln Gly Gln Leu Val Phe Asp Ala Asn Lys Asp Ile Ile Lys Asp Leu Lys Ala Ala Gly Arg Val Val Arg His Gln Thr Ile Glu His Ser Tyr Pro His Ser Trp 425 Arg Ser Gly Glu Pro Leu Ile Tyr Met Ala Leu Pro Ser Trp Phe Val Asn Val Thr Glu Ile Arg Asp Arg Met Val Glu Val Asn Gln Asp Ile 455 Glu Trp Met Pro Ala His Ile Arg Asp Gly Gln Phe Gly Lys Trp Leu 465 Glu Gly Ala Arg Asp Trp Asn Ile Ser Arg Ser Arg Tyr Trp Gly Ser 485 490 Pro Ile Pro Ala Trp Val Ser Asp Asn Asp Glu Tyr Pro Arg Val Asp Val Tyr Gly Ser Leu Asp Glu Leu Glu Ala Asp Phe Gly Val Arg Pro 520 Lys Ser Leu His Arg Pro Asp Ile Asp Glu Leu Thr Arg Pro Asn Pro

535

530

										T-4-	-				
Asp 545	Asp	Pro	Thr	Gly	Lys 550	Ser	Thr	Met	Arg	Arg 555	Val	Thr	Asp	Val	Leu 560
Asp	Val	Trp	Phe	Asp 5 6 5	Ser	Gly	Ser	Met	Pro 570	Phe	Ala	Gln	Val	His 5 7 5	Tyr
Pro	Phe	Glu	Asn 580	Lys	Glu	Trp	Phe	Asp 585	Thr	His	Ala	Pro	Ala 590	Asp	Phe
Ile	Val	Glu 595	Tyr	Ile	Gly	Gln	Thr 600	Arg	Gly	Trp	Phe	Tyr 605	Leu	Leu	His
Val	Leu 610	Ser	Thr	Ala	Leu	Phe 615	Asp	Arg	Pro	Ala	Phe 620	Lys	Lys	Val	Val
Ala 625	His	Gly	Ile	Val	Leu 630	Gly	Asp	Asp	Gly	Leu 635	Lys	Met	Ser	Lys	Ser 640
Lys	Gly	Asn	Tyr	Pro 645	Asn	Val	Asn	Glu	Val 650	Phe	Asp	Arg	Asp	Gly 655	Ser
qaA	Ala	Met	Arg 660	Trp	Phe	Leu	Met	Ser 665	Ser	Pro	Ile	Leu	Arg 670	Gly	Gly
Asn	Leu	Ile 675	Val	Thr	Glu	Lys	Gly 680	Ile	Arg	Glu	Gly	Val 685	Arg	Gln	Ala
Gln	Leu 690	Pro	Met	Trp	Asn	Ala 695	Tyr	Ser	Phe	Leu	Gln 700	Leu	Tyr	Thr	Ser
Lys 705	Asn	Ala	Thr	Trp	Ser 710	۷al	Asp	Ser	Thr	Asp 715	Val	Leu	Asp	Arg	Tyr 720
Ile	Leu	Ala	Lys	Leu 725	His	Asp	Leu	Val	Ala 730	Glu	Thr	Gln	Ala	Ala 735	Leu
Asp	Gly	Thr	Asp 740	Ile	Ala	Lys	Ala	Cys 745	Asp	Leu	Val	Arg	Asn 750	Phe	Cys
Asp	Ala	Leu 755	Thr	Asn	Trp	Tyr	Val 760	Arg	Arg	Ser	Arg	Asp 765	Arg	Phe	Trp
Ala	Gly 770	Asp	Glu	Ala	His	Pro 775	Glu	Ala	Phe	Asn	Thr 780	Leu	Tyr	Thr	Val
Leu 785	Glu	Thr	Leu	Thr	Arg 790	Val	Ala	Ala	Pro	Leu 795	Leu	Pro	Met	Thr	Thr 800
Glu	Val	Ile	Trp	Arg 805	Gly	Leu	Thr	Gly	Glu 810	Arg	Ser	Val	His	Leu 815	Thr
Asp	Phe	Pro	Ser 820	Ala	Glu	Ser	Phe	Pro 825	Ala	Asp	Ala	Asp	Leu 830	Val	Arg
Thr	Met	Asp 835	Glu	Ile	Arg	Gly	Val 840	Cys	Ser	Ala	Ala	Ser 845	Ser	Val	Arg
Lys	Ala 850	His	Lys	Leu	Arg	Asn 855	Arg	Leu	Pro	Leu	Pro 860	Gly	Leu	Thr	Val
Ala 865	Leu	Pro	Asp	Ser	Ala 870	Arg	Leu	Ala	Asp	Phe 875	Ala	Ser	Ile	Ile	Arg 880
Asp	Glu	Val	Asn	Val	Lys	Asn	Val	Asp	Leu	Thr	Ser	Asp	Val	Asp	Ser

WO 03/040180 145 890 895 885 Val Gly Thr Phe Glu Val Val Val Asn Ala Lys Val Ala Gly Pro Arg 905 Leu Gly Lys Asp Val Gln Arg Val Ile Lys Ala Val Lys Ala Gly Asn Tyr Thr Arg Glu Gly Asp Val Val Val Ala Asp Gly Ile Glu Leu Asn 935 Glu Gly Glu Phe Thr Glu Arg Leu Val Ala Ala Asn Pro Asp Ser Thr 950 Ala Gln Ile Asp Gly Val Asp Gly Leu Val Val Leu Asp Met Glu Val Thr Glu Glu Leu Glu Ala Glu Gly Trp Ala Ala Asp Ala Ile Arg Gly 985 Leu Gln Asp Ala Arg Lys Asn Ser Gly Phe Glu Val Ser Asp Arg Ile Ser Val Val Val Ser Val Pro Glu Asp Lys Lys Glu Trp Ile Thr Thr 1010 1015 His Ala Asp His Ile Ala Ala Glu Val Leu Ala Thr Ser Phe Glu Ile 1030 Val Thr Asp Ala Leu Asp Gly Glu Thr His Asp Ile Val Ala Gly Val 1045 1050 Thr Ala Lys Val Thr Lys Asn 1060 <210> 77 <211> 2290 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(2260) <223> RXA02731 <400> 77 qttgcatcga qtccgcgggt ttcgcacgct tgatctaaat tcttgaggggt tttccggccg 60 ttgtttgcgc taaacgtagg ggtcaagcgt cgaaaagcgc ttg ctt gca cgc tgt Leu Leu Ala Arg Cys ttt gct gcg ggc cgc aac gtg tcc acc ctg tgg cgt atc cta gaa tgc Phe Ala Ala Gly Arg Asn Val Ser Thr Leu Trp Arg Ile Leu Glu Cys atg gct ttt gct gct gaa cat cct gtc ctg tcc cac tct gag cac cgc 211 Met Ala Phe Ala Ala Glu His Pro Val Leu Ser His Ser Glu His Arg

ccg gtt ggt gaa atc gag cgt agc gat gac aaa ttt gtt gtc gtt agt Pro Val Gly Glu Ile Glu Arg Ser Asp Asp Lys Phe Val Val Val Ser

40 45 50

		40					#3					50				
gaa Glu	ttt Phe 55	gag Glu	cct Pro	gcg Ala	ggt Gly	gac Asp 60	cag Gln	cct Pro	gcg Ala	gct Ala	att Ile 65	aaa Lys	gag Glu	ctc Leu	gat Asp	307
gag Glu 70	cgc Arg	ttg Leu	gat Asp	cgc Arg	ggt Gly 75	gag Glu	cgg Arg	gac Asp	gtc Val	gtt Val 80	ttg Leu	atg Met	ggt Gly	gct Ala	act Thr 85	355
								gcg Ala								403
								aat Asn 110								451
								ccc Pro								499
								cca Pro								547
								tcg Ser								595
								ttg Leu								643
								tat Tyr 190								691
								aac Asn								739
								gat Asp								787
								cgc Arg								835
								gcg Ala								883
								atc Ile 270								931
								att Ile								979
gcg	gga	cct	gag	cgg	atg	gaa	aag	gca	gtc	gct	gat	att	aag	gcg	gag	1027

											w 114	•					
A.	la	Gly 295	Pro	Glu	Arg	Met	Glu 300	Lys	Ala	Val	Ala	Asp 305	Ile	Lys	Ala	Glu	
Ŀ															ttg Leu		1075
															atc Ile 340		1123
															att Ile		1171
															ttc Phe		1219
															ccg Pro		1267
I															ctc Leu		1315
															ttg Leu 420		1363
															tct Ser		1411
															gtg Val		1459
								Leu							gtc Val		1507
P															caa Gln		1555
															aaa Lys 500		1603
															gtg Val		1651
															ctg Leu		1699
															ctg Leu	ctg Leu	1747
C	gt	gag	ggc	ctt	gac	ctg	cca	gaa	gtc	tct	ctg	gtt	gcg	att	ctc	gac	1795

148 1C1/EI													/EI V2/.			
Arg 550	Glu	Gly	Leu	Asp	Leu 555	Pro	Glu	Val	Ser	Leu 560	Val	Ala	Ile	Leu	Asp 565	
				ggc Gly 570										_		1843
				gcc Ala												1891
				gat Asp												1939
				cag Gln												1987
				aag Lys												2035
				gga Gly 650												2083
				gac Asp	-					-		_	-		_	2131
				ctc Leu												2179
				gca Ala												2227
				ggt Gly							taag	rtcag	get t	geto	actta	2280
aagc	ttcg:	aa														2290
<211	> 78 > 72 > PR	0								-						

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 78

Leu Leu Ala Arg Cys Phe Ala Ala Gly Arg Asn Val Ser Thr Leu Trp

1 10 15

Arg Ile Leu Glu Cys Met Ala Phe Ala Ala Glu His Pro Val Leu Ser 20 25 30

His Ser Glu His Arg Pro Val Gly Glu Ile Glu Arg Ser Asp Asp Lys 35 40 45

Phe Val Val Val Ser Glu Phe Glu Pro Ala Gly Asp Gln Pro Ala Ala

50 55 60

Ile Lys Glu Leu Asp Glu Arg Leu Asp Arg Gly Glu Arg Asp Val Val 70 75 Leu Met Gly Ala Thr Gly Thr Gly Lys Ser Ala Thr Ala Ala Trp Leu Ile Glu Lys Gln Gln Arg Pro Ala Leu Val Met Ala Pro Asn Lys Thr 105 Leu Ala Ala Gln Leu Ala Asn Glu Leu Arg Gln Leu Leu Pro Asn Asn Ala Val Glu Tyr Phe Val Ser Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Gln Pro Glu Ala 130 135 140 Tyr Ile Ala Gln Thr Asp Thr Tyr Ile Glu Lys Asp Ser Ser Ile Asn 150 155 Glu Asp Val Glu Arg Leu Arg His Ser Ala Thr Ser Ser Leu Leu Ser 170 165 Arg Arg Asp Val Val Val Ser Ser Val Ser Cys Ile Tyr Gly Leu 185 Gly Thr Pro Gln Ser Tyr Leu Asp Arg Ser Val Val Leu Asn Val Gly 200 195 Glu Glu Ile Asp Arg Asp Arg Phe Leu Arg Leu Leu Val Asp Ile Gln Tyr Glu Arg Asn Asp Val Gly Phe Thr Arg Gly Ala Phe Arg Val Lys 235 230 225 Gly Asp Thr Val Asp Ile Ile Pro Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Val Arg 245 Ile Glu Phe Phe Gly Asp Glu Ile Asp Ala Leu Tyr Tyr Ile His Pro 260 Leu Thr Gly Asp Thr Ile Arg Gln Val Asn Glu Ile Arg Ile Phe Pro Ala Thr His Tyr Val Ala Gly Pro Glu Arg Met Glu Lys Ala Val Ala 290 Asp Ile Lys Ala Glu Leu Glu Val Arg Leu Ala Asp Leu Glu Asn Arg 315 Gly Lys Leu Leu Glu Ala Gln Arg Leu Arg Met Arg Thr Glu Tyr Asp Leu Glu Met Ile Glu Gln Val Gly Phe Cys Ser Gly Ile Glu Asn Tyr 345 Ser Arg His Ile Asp Gly Arg Gly Glu Gly Thr Ala Pro Ala Thr Leu Ile Asp Tyr Phe Pro Glu Asp Phe Leu Thr Ile Ile Asp Glu Ser His 375 380 Val Thr Val Pro Gln Ile Gly Gly Met Phe Glu Gly Asp Met Ser Arg 390 395 400 385

Lys Arg Asn Leu Val Glu Phe Gly Phe Arg Leu Pro Ser Ala Met Asp 405 410 415

Asn Arg Pro Leu Thr Trp Glu Glu Phe Asp Glu Arg Arg Gly Gln Thr 420 425 430

Val Phe Met Ser Ala Thr Pro Gly Lys Phe Glu Ile Ala Ala Asp 435 440 445

Gly Glu Phe Val Glu Gln Val Ile Arg Pro Thr Gly Leu Val Asp Pro 450 455 460

Lys Val Thr Val Lys Pro Thr Lys Gly Gln Ile Asp Asp Leu Ile His 465 470 475 480

Glu Ile Arg Gln Arg Thr Asp Lys Asp Glu Arg Val Leu Val Thr Thr 485 490 495

Leu Thr Lys Lys Met Ala Glu Asp Leu Thr Asp Tyr Leu Leu Glu Asn 500 505 510

Gly Ile Arg Val Arg Tyr Leu His Ser Asp Ile Asp Thr Leu Gln Arg 515 520 525

Val Glu Leu Leu Arg Gln Leu Arg Leu Gly Glu Tyr Asp Val Leu Val 530 535 540

Gly Ile Asn Leu Leu Arg Glu Gly Leu Asp Leu Pro Glu Val Ser Leu 545 550 555 560

Val Ala Ile Leu Asp Ala Asp Lys Glu Gly Phe Leu Arg Ser Thr Thr 565 570 575

Ser Leu Ile Gln Thr Ile Gly Arg Ala Ala Arg Asn Val Ser Gly Glu 580 585 590

Val Ile Met Tyr Ala Asp Lys Ile Thr Asp Ser Met Gln Tyr Ala Ile 595 600 605

Glu Glu Thr Asp Arg Arg Glu Lys Gln Val Ala Tyr Asn Lys Glu 610 615 620

His Gly Ile Asp Pro Gln Pro Leu Arg Lys Lys Ile Ala Asp Ile Leu 625 630 635 640

Asp Gln Val Tyr Asp Asn Ser Ala Asp Gly Ala Gly Pro Ser Ala Ser 645 650 655

Gly Asp Ala Ala Val Val Ala Lys Pro Asp Val Ser Ser Met Pro Ala 660 665 670

Lys Glu Val Gln Lys Leu Ile Asp Asp Leu Ser Ala Gln Met Ala Ala 675 680 685

Ala Ala Arg Glu Leu Lys Phe Glu Leu Ala Gly Arg Leu Arg Asp Glu 690 695 700

Ile Phe Glu Leu Lys Lys Glu Leu Arg Gly Ile Lys Asp Ala Gly Ile 705 710 715 720

<211> 1087 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(1057) <223> RXA02736 <400> 79 cagaggatta cccagcgggt acgtggggtc caaagagcgc tgatgaaatg ctttcccgca 60 acggtcacac ctggcgcagg ccataattta ggggcaaaaa atg atc ttt gaa ctt Met Ile Phe Glu Leu ccg gat acc acc cag caa att tcc aag acc cta act cga ctg cgt 163 Pro Asp Thr Thr Gln Gln Ile Ser Lys Thr Leu Thr Arg Leu Arg 15 10 gaa tog ggc acc cag gtc acc acc ggc cga gtg ctc acc ctc atc gtg 211 Glu Ser Gly Thr Gln Val Thr Thr Gly Arg Val Leu Thr Leu Ile Val 30 25 gtc act gac tcc gaa agc gat gtc gct gca gtt acc gag tcc acc aat Val Thr Asp Ser Glu Ser Asp Val Ala Ala Val Thr Glu Ser Thr Asn 40 45 gaa gcc tcg cgc gag cac cca tct cgc gtg atc att ttg gtg gtt ggc 307 Glu Ala Ser Arg Glu His Pro Ser Arg Val Ile Ile Leu Val Val Gly 60 gat aaa act gca gaa aac aaa gtt gac gca gaa gtc cgt atc ggt ggc 355 Asp Lys Thr Ala Glu Asn Lys Val Asp Ala Glu Val Arg Ile Gly Gly 75 70 gac gct ggt gct tcc gag atg atc atc atg cat ctc aac gga cct gtc 403 Asp Ala Gly Ala Ser Glu Met Ile Ile Met His Leu Asn Gly Pro Val 95 gct gac aag ctc cag tat gtc gtc aca cca ctg ttg ctt cct gac acc 451 Ala Asp Lys Leu Gln Tyr Val Val Thr Pro Leu Leu Pro Asp Thr 105 110 ccc atc gtt gct tgg tgg cca ggt gaa tca cca aag aat cct tcc cag 499 Pro Ile Val Ala Trp Trp Pro Gly Glu Ser Pro Lys Asn Pro Ser Gln 120 125 547 qac cca att gga cqc atc qca caa cga cgc atc act gat gct ttg tac Asp Pro Ile Gly Arg Ile Ala Gln Arg Arg Ile Thr Asp Ala Leu Tyr 135 140 gac cqt qat gac gca cta qaa gat cgt gtt gag aac tat cac cca ggt Asp Arg Asp Asp Ala Leu Glu Asp Arg Val Glu Asn Tyr His Pro Gly 150 155 gat acc gac atg acg tgg gcg cgc ctt acc cag tgg cgg gga ctt gtt Asp Thr Asp Met Thr Trp Ala Arg Leu Thr Gln Trp Arg Gly Leu Val 175 180 170 gcc tcc tca ttg gat cac cca cca cac agc gaa atc act tcc gtg agg Ala Ser Ser Leu Asp His Pro Pro His Ser Glu Ile Thr Ser Val Arg 185 190

152																
									gtg Val							73 9
									atc Ile							787
									act Thr							835
									tcg Ser 255							883
									ccg Pro							931
_	_		-			_	_	_	gag Glu		_	_	_			979
		_		_	-		-	-	ggc Gly		_		_			1027
-	ttg Leu			-					gtc Val	taag	rgaga	aa t	acaa	acact	a	1077
tggt	tgat	gt														1087
<213 <212	0> 80 L> 31 2> PE 3> Co	L9 RT	ebact	ceriu	ım g]	lutan	nicur	α								
)> 8(<i>α</i> 7	*	*	7	ml.									
Met 1	TTE	Pne	GIU	ьeu	Pro	AGD			mile se	71 -	<u>م</u> ات	71.	C	T	mb	
				5		1.0.0	THE	Thr	Thr 10	Gln	Gln	Ile	Ser	Lys 15	Thr	
Leu	Thr	Arg	Leu 20	5										15		
			20	5 Arg	Glu	Ser	Gly	Thr 25	10	Val	Thr	Thr	Gly 30	15 Arg	Val	
Leu	Thr	Leu 35	20 Ile	5 Arg Val	Glu Val	Ser Thr	Gly Asp 40	Thr 25 Ser	10 Gln	Val Ser	Thr Asp	Thr Val 45	Gly 30 Ala	15 Arg Ala	Val Val	
Leu Thr	Thr Glu 50	Leu 35 Ser	20 Ile Thr	5 Arg Val Asn	Glu Val Glu	Ser Thr Ala 55	Gly Asp 40 Ser	Thr 25 Ser Arg	10 Gln Glu	Val Ser His	Thr Asp Pro 60	Thr Val 45 Ser	Gly 30 Ala Arg	15 Arg Ala Val	Val Val Ile	
Leu Thr Ile 65	Thr Glu 50 Leu	Leu 35 Ser Val	20 Ile Thr	5 Arg Val Asn Gly	Glu Val Glu Asp 70	Ser Thr Ala 55 Lys	Gly Asp 40 Ser	Thr 25 Ser Arg	10 Gln Glu Glu	Val Ser His Asn 75	Thr Asp Pro 60 Lys	Thr Val 45 Ser Val	Gly 30 Ala Arg	15 Arg Ala Val Ala	Val Val Ile Glu 80	

Leu Leu Pro Asp Thr Pro Ile Val Ala Trp Trp Pro Gly Glu Ser Pro

125 120 115 Lvs Asn Pro Ser Gln Asp Pro Ile Gly Arg Ile Ala Gln Arg Arg Ile 135 140 Thr Asp Ala Leu Tyr Asp Arg Asp Asp Ala Leu Glu Asp Arg Val Glu 155 Asn Tyr His Pro Gly Asp Thr Asp Met Thr Trp Ala Arg Leu Thr Gln 170 Trp Arg Gly Leu Val Ala Ser Ser Leu Asp His Pro Pro His Ser Glu Ile Thr Ser Val Arg Leu Thr Gly Ala Ser Gly Ser Thr Ser Val Asp Leu Ala Ala Gly Trp Leu Ala Arg Arg Leu Lys Val Pro Val Ile Arg 215 Glu Val Thr Asp Ala Pro Thr Val Pro Thr Asp Glu Phe Gly Thr Pro 235 230 Leu Leu Ala Ile Gln Arg Leu Glu Ile Val Arg Thr Thr Gly Ser Ile Ile Ile Thr Ile Tyr Asp Ala His Thr Leu Gln Val Glu Met Pro Glu 265 Ser Gly Asn Ala Pro Ser Leu Val Ala Ile Gly Arg Arg Ser Glu Ser 280 Asp Cys Leu Ser Glu Glu Leu Arg His Met Asp Pro Asp Leu Gly Tyr 295 Gln His Ala Leu Ser Gly Leu Ser Ser Val Lys Leu Glu Thr Val 310 315 305 <210> 81 <211> 2479 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(2449) <223> RXA02742 <400> 81 gtatcggtaa aaggcccaat caaggattct tggttgggtc tttttccatg cttttcatgc 60 ttegaacagt ccagaatage cetgacetag acttagaget atg tee gaa caa aga Met Ser Glu Gln Arg 1 ctc gat cag ctt gag cga cgg ctt tct gaa ctg gaa cgg gag atc gcc Leu Asp Gln Leu Glu Arg Arg Leu Ser Glu Leu Glu Arg Glu Ile Ala 15 20 10 gcg att cgt cag gag atc cgc cag gaa cgc cta gtg ctt ccg gaa ccg 211

Ala Ile Arg Gln Glu Ile Arg Gln Glu Arg Leu Val Leu Pro Glu Pro 30

25

											_					
	cct Pro															25 9
	gca Ala 55															307
	agt Ser															35 5
	ggc Gly															403
	gac Asp															451
	gcg Ala															499
	ccc Pro 135															547
	tgg Trp															595
gga Gly	atc Ile	gat Asp	gcg Ala	ttg Leu 170	gct Ala	gaa Glu	att Ile	tct Ser	cga Arg 175	tcc Ser	gac Asp	gac Asp	ggc Gly	gcc Ala 180	ccc Pro	643
	tgg Trp															691
	ggt Gly															739
	atg Met 215															787
	cgc Arg															835
	aac Asn															883
	acg Thr															931
	cca Pro															979

											•					
gaa Glu	aaa Lys 295	ttt Phe	ggc Gly	ccc Pro	gaa Glu	ccc Pro 300	gaa Glu	cac His	atc Ile	aaa Lys	cgc Arg 305	ccc Pro	acc Thr	cgc Arg	gcc Ala	1027
gaa Glu 310	ctc Leu	aaa Lys	cag Gln	gtt Val	aaa Lys 315	gcc Ala	aac Asn	ggc Gly	gaa Glu	acc Thr 320	atc Ile	aaa Lys	ctc Leu	acc Thr	atc Ile 325	1075
	aac Asn															1123
	gag Glu															1171
	caa Gln															1219
	ttc Phe 375															1267
	gac Asp															1315
atc Ile	tgg Trp	cct Pro	cgg Arg	caa Gln 410	act Thr	cgg Arg	aaa Lys	acc Thr	atc Ile 415	gac Asp	gcg Ala	tct Ser	ttc Phe	gag Glu 420	ggc Gly	1363
gaa Glu	ttg Leu	cga Arg	tcc Ser 425	atg Met	caa Gln	caa Gln	gag Glu	gga Gly 430	atc Ile	gac Asp	tcg Ser	ctc Leu	aaa Lys 435	ggc Gly	caa Gln	1411
cgc Arg	acc Thr	ggc Gly 440	gta Val	ttg Leu	gta Val	gca Ala	ccg Pro 445	ccg Pro	ggc Gly	gct Ala	gga Gly	aaa Lys 450	aca Thr	gtg Val	atg Met	1459
gcc Ala	tgt Cys 455	gca Ala	ctc Leu	atc Ile	gcg Ala	aac Asn 460	aga Arg	aaa Lys	atc Ile	ccc Pro	acc Thr 465	gca Ala	gtg Val	ata Ile	gtc Val	1507
aac Asn 470	cgt Arg	gca Ala	gaa Glu	ttg Leu	att Ile 475	tcc Ser	caa Gln	tgg Trp	cgg Arg	gat Asp 480	cgt Arg	ctc Leu	gcg Ala	caa Gln	tac Tyr 485	1555
	agc Ser															1603
	acc Thr															1651
aaa Lys	gat Asp	tcc Ser 520	gat Asp	ccg Pro	aaa Lys	att Ile	ttg Leu 525	gaa Glu	caa Gln	tac Tyr	ggc Gly	caa Gln 530	atc Ile	atc Ile	gtc Val	1699
gac Asp	gag Glu 535	tgc Cys	cac His	aac Asn	atc Ile	gca Ala 540	gcc Ala	cca Pro	ggc Gly	gcc Ala	gaa Glu 545	gcc Ala	gca Ala	ttg Leu	aac Asn	1747

	Val											_			cgt Arg 565	1795
					gaa Glu					Gln						1843
		_	_		gca Ala		-		_	_	_	_				1891
					gac Asp											1939
					gtc Val											1987
					ctt Leu 635											2035
					ctt Leu											2083
					tta Leu											2131
					gcg Ala											2179
					gcg Ala				_	-		-			_	2227
atc Ile 710	ccc Pro	agc Ser	ctc Leu	aac Asn	acg Thr 715	ctg Leu	ttt Phe	ttg Leu	gca Ala	gcg Ala 720	ccg Pro	gtg Val	tcc Ser	ttc Phe	aag Lys 725	2275
					caa Gln											2323
					gtg Val											2371
					aaa Lys											2419
					gct Ala					tgag	gagg	ac c	agac	caaa	.c	2469
cago	gtgc	CC														2479

<211> 783

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 82

Met Ser Glu Gln Arg Leu Asp Gln Leu Glu Arg Arg Leu Ser Glu Leu 1 5 10 15

Glu Arg Glu Ile Ala Ala Ile Arg Gln Glu Ile Arg Gln Glu Arg Leu 20 25 30

Val Leu Pro Glu Pro Glu Pro Val Lys Val Asp Thr Val Ile Ala Thr 35 40 45

Glu Ala Thr Gly Val Asn Ala Ser Ser Gly Pro Glu Ala Lys Ile Ala 50 55 60

Leu Phe Met Glu Arg Phe Ser Gly Arg His Asp Val Tyr Ala Arg Arg 65 70 75 80

Trp Thr Ser Arg Lys Thr Gly Lys Ser Gly Trp Ser Pro Ala Thr Arg 85 90 95

Gln Gly Phe Tyr Ser Lys Asp Thr Thr Pro Lys Asp Tyr Leu Pro Phe 100 105 110

Thr Val Asp Thr Val Asn Ala His Leu Arg Arg Gly Gly Asp His Ile 115 120 125

Gly Leu Tyr Val Met Val Pro Ile Asp Thr Cys Lys Leu Leu Ala Cys 130 135 140

Asp Phe Asp Asp Gly Thr Trp Lys Gln Asp Ala Ala Ala Phe Val Ser 145 150 155 160

Ala Cys Thr Asp His Gly Ile Asp Ala Leu Ala Glu Ile Ser Arg Ser 165 170 175

Asp Asp Gly Ala Pro Val Trp Ile Phe Phe Asp Thr Pro Ile Ser Ala 180 185 190

Met Leu Ala Arg Arg Leu Gly Phe Ala Met Leu Arg Gln Ala Met Asn 195 200 205

Ser Arg Pro Asp Met Asp Met Ser Ser Tyr Asp Arg Phe Phe Pro Ala 210 215 220

Gln Asp Thr Ile Ala Thr Arg Ala Asn Gly Ser Ala Arg Leu Gly Asn 225 230 235 240

Leu Ile Ala Leu Pro Leu Asn Gly Asp Cys Arg Ala Arg Asn Thr Ala 245 250 255

Val Phe Ala Asp Ser Glu Thr Trp Val Pro Phe Glu Asp Pro Phe Ala 260 265 270

Ala Leu Ala Ala Ile Thr Pro Leu Ala Thr Glu Lys Ile Glu Gln Ile 275 280 285

Leu Ala Thr Thr Gln Glu Lys Phe Gly Pro Glu Pro Glu His Ile Lys 290 295 300

Arg Pro Thr Arg Ala Glu Leu Lys Gln Val Lys Ala Asn Gly Glu Thr

										TO	3				
305					310					315					320
Ile	Lys	Leu	Thr	Ile 325	Thr	Asn	Glu	Leu	Ser 330	Val	Pro	Thr	Glu	Arg 335	Leu
Pro	Ala	Ala	Val 340	Ile	Ala	Glu	Ile	Lys 345	His	Arg	Ala	Val	Ile 350	Pro	Asn
Pro	Glu	Phe 355	Tyr	Arg	Arg	Gln	Ala 360	Gln	Arg	Phe	Ser	Thr 365	Phe	Gly	Val
Pro	Arg 370	Ile	Val	Ile	Arg	Phe 375	Ala	Gln	Ala	Glu	Gln 380	Arg	Leu	Leu	Leu
Pro 385	Arg	Gly	Leu	Val	Asp 390	Asp	Thr	Leu	Arg	Ile 3 9 5	Leu	Thr	Leu	Ala	Gly 400
Tyr	Lys	Val	Ser	Val 405	Ile	Trp	Pro	Arg	Gln 410	Thr	Arg	Lys	Thr	Ile 415	Asp
Ala	Ser	Phe	Glu 420	Gly	Glu	Leu	Arg	Ser 425	Met	Gln	Gln	Glu	Gly 430	Ile	qaA
Ser	Leu	Lys 435	Gly	Gln	Arg	Thr	Gly 440	Val	Leu	Val	Ala	Pro 445	Pro	Gly	Ala
Gly	Lys 450	Thr	Val	Met	Ala	Cys 455	Ala	Leu	Ile	Ala	Asn 460	Arg	Lys	Ile	Pro
Thr 465	Ala	Val	Ile	Val	Asn 470	Arg	Ala	Glu	Leu	Ile 475	Ser	Gln	Trp	Arg	Asp 480
Arg	Leu	Ala	Gln	Tyr 485	Leu	Ser	Ile	Asp	Ala 490	Asp	Ser	Ile	Gly	Gln 495	Ile
Gly	Ala	Gly	Arg 500	Arg	Lys	Thr	Thr	Gly 505	Ile	Ile	Asp	Leu	Ile 510	Thr	Val
Gln	Ser	Leu 515	Ser	Arg	Lys	Asp	Ser 520	Asp	Pro	Lys	Ile	Leu 525	Glu	Gln	Tyr
Gly	Gln 530	Ile	Ile	Val	Asp	Glu 535	Cys	His	Asn	Ile	Ala 540	Ala	Pro	Gly	Ala
Glu 545	Ala	Ala	Leu	Asn	Gln 550	Val	Lys	Ala	Pro	Tyr 555	Trp	Leu	GJA	Leu	Thr 560
Ala	Thr	Pro	Phe	Arg 565	Ser	Asp	His	Met	Asp 570	Glu	Ile	Ile	Thr	Met 575	Gln
Cys	Gly	Pro	Val 580	Arg	His	Arg	Met	Glu 585	Val	Ala	Thr	Asp	Asn 590	Glu	Gln
Arg	Leu	Ile 595	His	Ile	His	Glu	Thr 600	Ser	Phe	Asp	Ser	Glu 605	Glu	Thr	Thr
Glu	Ile 610	Gln	Asp	Leu	Tyr	Asn 615	Glu	Leu	Ala	Val	Asp 620	Ser	Ala	Arg	Asn
Ala 625	Gln	Ile	Thr	Ala	Glu 630	Val	His	Lys	Ala	Leu 635	Glu	Ala	Gly	Asp	Arg 640
Cys	Leu	Val	Leu	Val 645	Asn	Arg	Ile	Ala	Ala 650	Leu	Glu	Ala	Leu	Thr 655	Ser

Ser Ile Thr Glu Ser Gly Asp His Thr Val Leu Val Met His Gly Arg 665 Gln Thr Gln Glu Glu Arg Val His Leu Arg Ala Gln Leu Ala Ser Leu 680 Ser Glu Lys Gln Asp Pro Phe Val Leu Val Ala Met Asn Lys Val Ala 695 Gly Glu Gly Leu Asp Ile Pro Ser Leu Asn Thr Leu Phe Leu Ala Ala 710 Pro Val Ser Phe Lys Gly Leu Val Ile Gln Gln Ile Gly Arg Val Thr 730 Arg Ala Thr Gly Asp Gln Asn Ala Pro Pro Val Thr Ala Thr Val His 745 Asp Phe Val Asp Ser Lys Ile Pro Thr Leu Lys Arg Met His Gly Arg 760 Arg Leu Arg Ala Met Gln Lys Glu Gly Phe Ala Val Ser Glu Pro 775 <210> 83 <211> 1771 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(1741) <223> RXA02748 <400> 83 caggtcgttg gcaggtagct gacgtgacct gagcgggggc aaccggctaa catgtaggga 60 ttagcaaccc cgcactctag aacctactgg gagttcattc gtg ttt gag tca ctg Val Phe Glu Ser Leu 163 tcc gat cgg ttg aat agc gcg ctt tcc ggc ctg cgc ggc aaa gga aag Ser Asp Arg Leu Asn Ser Ala Leu Ser Gly Leu Arg Gly Lys Gly Lys 10 15 211 ctc acc gag gca gac atc aat gca acc aca cgc gag atc cgt ctc gcg Leu Thr Glu Ala Asp Ile Asn Ala Thr Thr Arg Glu Ile Arg Leu Ala 25 259 ctg ctg gaa gct gac gtt tca tta acg gtt gtt cgt gcc ttc att aac Leu Leu Glu Ala Asp Val Ser Leu Thr Val Val Arg Ala Phe Ile Asn 45 40 307 cga atc aag gaa cgc gcc gct ggt gca gaa gtt tct cag gca ctc aac Arg Ile Lys Glu Arg Ala Ala Gly Ala Glu Val Ser Gln Ala Leu Asn 55 355 ccc gcg cag caa gtc atc aag atc gtc aac gag gaa ctg gtt cag atc Pro Ala Gln Gln Val Ile Lys Ile Val Asn Glu Glu Leu Val Gln Ile 70 75 403 ctc ggt ggc gaa acc cgc cga ctg tca ctg gcc aaa aac cca ccg acc

WO 03/040180 PCT/EP02/12138

			, 200							TO)					
Leu	Gly	Gly	Glu	Thr 90	Arg	Arg	Leu	Ser	Leu 95	Ala	Lys	Asn	Pro	Pro 100	Thr	
gtc Val	atc Ile	atg Met	ctg Leu 105	gca Ala	ggt Gly	ctg Leu	cag Gln	ggt Gly 110	gca Ala	ggt Gly	aag Lys	acc Thr	acc Thr 115	ctc Leu	gca Ala	451
ggt Gly	aaa Lys	ctg Leu 120	tcc Ser	aag Lys	cac His	ctg Leu	gtc Val 125	aag Lys	cag Gln	ggt Gly	cac His	act Thr 130	cct Pro	atg Met	ctt Leu	499
gtt Val	gcc Ala 135	tgt Cys	gac Asp	ctt Leu	cag Gln	cgt Arg 140	cca Pro	Gly ggc	gca Ala	gtt Val	cag Gln 145	cag Gln	ctg Leu	caa Gln	att Ile	547
gtg Val 150	ggt Gly	gaa Glu	c gc Arg	g c a Ala	ggc Gly 155	gtt Val	acc Thr	act Thr	ttc Phe	gca Ala 160	ccg Pro	gat Asp	cca Pro	ggc	acc Thr 165	595
										acc Thr						643
gtc Val	gag Glu	gta Val	gcg Ala 185	cgc Arg	gca Ala	ggt Gly	atc Ile	gaa Glu 190	gaa Glu	gcc Ala	aag Lys	cgc Arg	acc Thr 195	cag Gln	cac His	691
gac Asp	atc Ile	gtg Val 200	atc Ile	gtg Val	gat Asp	acc Thr	gca Ala 205	ggt Gly	cgc Arg	ctc Leu	ggt Gly	atc Ile 210	gat Asp	gaa Glu	acc Thr	739
ctg Leu	atg Met 215	act Thr	cag Gln	gca Ala	cgc Arg	aac Asn 220	atc Ile	cgc Arg	gaa Glu	gcc Ala	atc Ile 225	aac Asn	cct Pro	gat Asp	gaa Glu	787
										caa Gln 240						835
gcc Ala	gaa Glu	gca Ala	ttc Phe	cgc Arg 250	ga c Asp	gg c Gly	Val	Asp	Phe	acc Thr	Gly	Val	Val	ctg Leu 260	acc Thr	883
aag Lys	ctt Leu	gat Asp	ggc Gly 265	gac Asp	gc c Ala	cgc Arg	ggt Gly	ggt Gly 270	gct Ala	gca Ala	cta Leu	tcc Ser	atc Ile 275	cgt Arg	gaa Glu	931
gtc Val	ac c Thr	ggc Gly 280	aag Lys	cc c Pro	atc Ile	atg Met	ttt Phe 285	g c c Ala	tcc Ser	act Thr	ggt Gly	gaa Glu 290	aaa Lys	ctc Leu	gac Asp	979
gac Asp	ttc Phe 295	gac Asp	gtc Val	ttc Phe	cac His	cca Pro 300	gag Glu	cgc Arg	atg Met	gcc Ala	agc Ser 305	cga Arg	atc Ile	ctg Leu	Gly ggc	1027
atg Met 310	ggt Gly	gac Asp	gta Val	ctg Leu	tca Ser 315	ctc Leu	atc Ile	gag Glu	cag Gln	gcc Ala 320	gaa Glu	gca Ala	gtc Val	atg Met	gat Asp 325	1075
cag Gln	gaa Glu	aag Lys	gca Ala	gag Glu 330	gtc Val	gct Ala	gcc Ala	cag Gln	aag Lys 335	ttg Leu	ggc Gly	tcc Ser	ggc	gag Glu 340	ctc Leu	1123
acc	ctg	gaa	gac	ttc	ctt	gac	caa	atg	ctg	atg	atc	cgc	cgc	atg	gga	1171

										16.	L					
Thr	Leu	Glu	Asp 345	Phe	Leu	Asp	Gln	Met 350	Leu	Met	Ile	Arg	Arg 355	Met	Gly	
				atc Ile												1219
				atg Met												1267
				atg Met												1315
				cgc Arg 410												1363
				aaa Lys												1411
				gct Ala												1459
				caa Gln												1507
				aag Lys												155 5
				cct Pro 490												1603
				cta Leu												1651
				GJA āāc												1699
				gat Asp												1741
taac	tttg	sct t	tagt	tggt	ca gg	gegea	tcac	2								1771

<210> 84 <211> 547

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 84

Val Phe Glu Ser Leu Ser Asp Arg Leu Asn Ser Ala Leu Ser Gly Leu
1 5 10 15

										1.0	4				
Arg	Gly	Lys	Gly 20	Lys	Leu	Thr	Glu	Ala 25	Asp	Ile	Asn	Ala	Thr 30	Thr	Arg
Glu	Ile	Arg 35	Leu	Ala	Leu	Leu	Glu 40	Ala	Asp	Val	Ser	Leu 45	Thr	Val	Val
Arg	Ala 50	Phe	Ile	Asn	Arg	Ile 55	Lys	Glu	Arg	Ala	Ala 60	Gly	Ala	Glu	Val
Ser 65	Gln	Ala	Leu	Asn	Pro 70	Ala	Gln	Gln	Val	Ile 75	Lys	Ile	Val	Asn	Glu 80
Glu	Leu	Val	Gln	Ile 85	Leu	Gly	Gly	Glu	Thr 90	Arg	Arg	Leu	Ser	Leu 95	Ala
Lys	Asn	Pro	Pro 100	Thr	Val	Ile	Met	Leu 105	Ala	Gly	Leu	Gln	Gly 110	Ala	Gly
Lys	Thr	Thr 115	Leu	Ala	Gly	Lys	Leu 120	Ser	Lys	His	Leu	Val 125	Lys	Gln	Gly
His	Thr 130	Pro	Met	Leu	Val	Ala 135	Cys	Asp	Leu	Gln	Arg 140	Pro	G1y	Ala	Val
Gln 145	Gln	Leu	Gln	Ile	Val 150	Gly	Glu	Arg	Ala	Gly 155	Val	Thr	Thr	Phe	Ala 160
Pro	Asp	Pro	Gly	Thr 165	Ser	Ile	Asp	Ser	Leu 170	Glu	His	Glu	Met	Gly 175	Thr
Ser	His	Gly	Asp 180	Pro	Val	Glu	Val	Ala 185	Arg	Ala	Gly	Ile	Glu 190	Glu	Ala
Lys	Arg	Thr 195	Gln	His	Asp	Ile	Val 200	Ile	Val	Asp	Thr	Ala 205	Gly	Arg	Leu
Gly	Ile 210	Asp	Glu	Thr	Leu	Met 215	Thr	Gln	Ala	Arg	Asn 220	Ile	Arg	Glu	Ala
I1e 225	Asn	Pro	Asp	Glu	Val 230	Leu	Phe	Val	Ile	Asp 235	Ser	Met	Ile	Gly	Gln 240
Asp	Ala	Val	Asp	Thr 245	Ala	Glu	Ala	Phe	Arg 250	qaA	Gly	Val	Asp	Phe 255	Thr
Gly	Val	Val	Leu 260	Thr	Lys	Leu	Asp	Gly 265	Asp	Ala	Arg	Gly	Gly 270	Ala	Ala
Leu	Ser	Ile 275	Arg	Glu	Val	Thr	Gly 280	Lys	Pro	Ile	Met	Phe 285	Ala	Ser	Thr
Gly	Glu 290	Lys	Leu	Asp	Asp	Phe 295	Asp	Val	Phe	His	Pro 300	Glu	Arg	Met	Ala
Ser 305	Arg	Ile	Leu	Gly	Met 310	Gly	Asp	Val	Leu	Ser 315	Leu	Ile	Glu	Gln	Ala 320
Glu	Ala	Val	Met	Asp 325	Gln	Glu	Lys	Ala	Glu 330	Val	Ala	Ala	Gln	Lys 335	Leu
Gly	Ser	Gly	Glu 340	Leu	Thr	Leu	Glu	Asp 345	Phe	Leu	Asp	Gln	Met 350	Leu	Met
Ile	Arg	Arg	Met	Gly	Pro	Ile	Gly	Asn	Ile	Leu	Lys	Met	Leu	Pro.	Gly

WO 03/040180 163 365 355 360 Gly Lys Gln Met Ser Gln Met Ala Asp Met Val Asp Glu Lys Gln Leu 375 Asp Arg Ile Gln Ala Ile Ile Arg Gly Met Thr Pro Ala Glu Arg Asp Asn Pro Lys Ile Leu Asn Ala Ser Arg Arg Lys Arg Ile Ala Asn Gly 410 Ser Gly Val Thr Val Ser Glu Val Asn Lys Leu Val Glu Arg Phe Phe 425 Glu Ala Arg Lys Met Met Gly Gln Met Ala Gly Gln Phe Gly Met Gly Pro Gly Ser Arg Ser Ala Thr Lys Lys Gln Ala Lys Gly Arg Lys Gly Lys Asn Gly Lys Arg Lys Pro Ala Lys Lys Gly Pro Thr Gln Pro Lys 475 470 Met Pro Met Gly Gly Met Pro Gly Met Pro Gly Met Pro Gly Met Gly 485 490 Gly Ala Gly Met Pro Asp Leu Ala Glu Leu Gln Lys Gln Leu Gly Gly 505 Ala Gly Gly Met Gly Gly Leu Gly Gly Leu Pro Gly Met Pro 515 520 Lys Pro Pro Lys Gly Met Glu Asn Ile Asp Leu Asn Asn Leu Asp Phe 540 535 Gly Lys Lys 545 <210> 85 <211> 958 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(928) <223> RXA03070 <400> 85 qtqqataaaa gggaaaacat aggggtcatg aaatagaaca agcacgaggc ctggtaaata 60 cgaattcgac caagaaaacg taaacacccc aggagtactc gtg cct gcc ctt cca 115 Val Pro Ala Leu Pro tca tct atc atc gac ccc ctc tgg cgc cag ttc tcc gcc tta atc cca Ser Ser Ile Ile Asp Pro Leu Trp Arg Gln Phe Ser Ala Leu Ile Pro 15 10

ccg gtt atc atc acc cac cca cta ggg tgc cac cgt gca cgc att gct

Pro Val Ile Ile Thr His Pro Leu Gly Cys His Arg Ala Arg Ile Ala

25

										±0-	-					
								atc Ile								259
								acc Thr								307
acc Thr 70	cgc Arg	cga Arg	gac Asp	gag Glu	tgg Trp 75	atc Ile	act Thr	gcc Ala	GJA aaa	att Ile 80	ttc Phe	aag Lys	aat Asn	tta Leu	gaa Glu 85	355
								cgt Arg								403
								gtt Val 110								451
								cgg Arg								499
								ccg Pro								547
								tta Leu								595
ggc	cgg Arg	ttt Phe	gly ggg	ggc Gly 170	tct Ser	ctt Leu	ccc Pro	gat Asp	cag Gln 175	atc Ile	acg Thr	gtg Val	cat His	ctc Leu 180	gat Asp	643
								cgc Arg 190								691
								ggt Gly								739
cgg Arg	tgg Trp 215	gtg Val	gtg Val	gag Glu	cgt Arg	act Thr 220	aac Asn	tct Ser	tgg Trp	cat His	aac Asn 225	cgg Arg	ggt Gly	ttt Phe	aag Lys	787
								tgt Cys								835
								att Ile								883
								acc Thr 270								928
taai	ctat	cc g	gegea	atct	c ta	agga	igaaa	ı								958

<211> 276

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 86

Val Pro Ala Leu Pro Ser Ser Ile Ile Asp Pro Leu Trp Arg Gln Phe 1 5 10 15

Ser Ala Leu Ile Pro Pro Val Ile Ile Thr His Pro Leu Gly Cys His 20 25 30

Arg Ala Arg Ile Ala Asp Arg Ile Ile Val Asp Lys Leu Ile Ala Val 35 40 45

Leu Val Leu Gly Val Ser Tyr Ile Lys Ile Ser Asp Ser Thr Cys Ser 50 55 60

Ala Thr Thr Ile Arg Thr Arg Arg Asp Glu Trp Ile Thr Ala Gly Ile 65 70 75 80

Phe Lys Asn Leu Glu Gln Ile Cys Leu Glu Ser Tyr Asp Arg Phe Ile

Gly Leu Asp Leu Glu Asn Leu Asn Val Asp Gly Cys Ile Val Lys Ala 100 105 110

Pro Cys Gly Glu Val Ala Gly Arg Phe Pro Val Asp Arg Glu Lys 115 120 125

Gly Thr Lys Arg Ser Leu Met Val Asp Gly His Gly Ile Pro Ile Gly 130 135 140

Cys Val Val Ala Gly Ala Asn Arg His Asp Leu Pro Leu Leu Ala Ala 145 150 155 160

Thr Leu Asp Thr Leu Gly Arg Phe Gly Gly Ser Leu Pro Asp Gln Ile 165 170 175

Thr Val His Leu Asp Ala Gly Tyr Asp Ser Lys Lys Thr Arg Arg Leu 180 185 190

Leu Ser Glu Phe Gly Tyr Ser Trp Val Ile Ser Ile Lys Gly Glu Pro 195 200 205

Leu Gln Ala Gly Thr Arg Trp Val Val Glu Arg Thr Asn Ser Trp His 210 215 220

Asn Arg Gly Phe Lys Lys Leu Ser Ile Cys Thr Glu Arg Cys Thr Arg 225 230 235 235

Val Val Glu Ala Phe Ile Ala Leu Ala Asn Ala Val Ile Ile Leu Arg 245 250 255

Arg Leu Ile Lys Gln Ala Trp Thr Ser Tyr Arg Trp Asp Thr Arg Pro 260 265 270

Gly His Arg Pro 275

<210> 87

<211> 754

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(724)

<223> RXA03098

	0> 8 cgtt		tcga	tcgc	ac c	gctg	ctgg	c tc	gcac	catc	aac	gaga	tet	tcga	aaacgg	60
ttc	cgtc	acc	accc	tctt	cg a	gggc	gagg	c ct	aaac	accc		Pro	acc Thr	_	_	115
					cgg Arg					Pro						163
					gca Ala											211
					ccc Pro											259
					gac Asp											307
					cag Gln 75											355
					ggt Gly											403
					gat Asp											451
					aaa Lys											499
					atc Ile											547
					tgg Trp 155											595
					gcg Ala											643
					gtc Val											691

cca ctg agc cgg cga gaa gcc ctg aag aat att tagccctcag gcatcatctg 744

Pro Leu Ser Arg Arg Glu Ala Leu Lys Asn Ile 200 205

agcgagtgcc 754

<210> 88

<211> 208

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 88

Met Pro Thr Thr Asp Val Phe Asn Arg Val Arg Leu Ala Leu Glu Pro 1 5 10 15

Leu Ala Asp Pro Ala Arg Ala Thr Gly Met Ala Ser Tyr Met Arg Asp 20 25 30

Gln Phe Ser Phe Leu Gly Ile Pro Ser Thr Pro Arg Lys Glu Ala Cys 35 40 45

Lys Pro Val Leu Ser Ala Leu Lys Glu Leu Asp Thr Asp Phe Val Ser 50 55 60

Asp Cys Phe Gly Ala Ala Glu Arg Glu Tyr Gln Tyr Val Ala Cys Asp 65 70 75 80

His Ile Asn Arg Val Gly Ile Thr Asp Leu Gly Phe Ala Lys Ala Leu 85 90 95

Val Gln Thr Lys Ser Trp Trp Asp Thr Val Asp Ser Leu Ala Lys Pro 100 105 110

Ile Gly Ala Lys His Asp Asp Asp Leu Met Lys Thr Trp Ala Leu Asp

Glu Asp Phe Trp Val Arg Arg Ile Ala Ile Ile His Gln Leu Gly Arg 130 135 140

Lys Lys Asn Thr Asp Ala Ala Leu Leu Ala Trp Ile Ile Glu Gln Asn 145 150 155 160

Leu Gly Ser Ser Glu Phe Phe Ile Asn Lys Ala Ile Gly Trp Ala Leu 165 170 175

Arg Asp Phe Ala Arg His Asp Pro Ser Trp Val Arg Ala Phe Val Asp 180 185 190

Ala Thr Asp Leu Ser Pro Leu Ser Arg Arg Glu Ala Leu Lys Asn Ile 195 200 205

<210> 89

<211> 562

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(532)

<223> RXA03206

<400> 89 gaatccctgc acaacggcgc cattgcggcg ttggtggatc tcatccgcca cggattggtg 60 ttgcccgctg atcttctcga ttcttaaata aggactgatt gtg aaa gcc gtt tta Val Lys Ala Val Leu 163 acc cgt gtg agt tcc gcc agc gtc agc gtg gat gat gaa att gtt gga Thr Arg Val Ser Ser Ala Ser Val Ser Val Asp Asp Glu Ile Val Gly gcc atc gat tgc ccc gac acc gga ggc att ttg gcg ctg gtt gga gtc 211 Ala Ile Asp Cys Pro Asp Thr Gly Gly Ile Leu Ala Leu Val Gly Val 25 ggc gct gct gat agc gac gcc tgg gaa acc atg gtg cga aaa att 259 Gly Ala Ala Asp Ser Asp Asp Ala Trp Glu Thr Met Val Arg Lys Ile 45 40 gct gag ctg cgc atc ttg gat ggc gaa caa tcc gtc agt gat gtc aat 307 Ala Glu Leu Arg Ile Leu Asp Gly Glu Gln Ser Val Ser Asp Val Asn 60 gct ccc gta ctg ctt gtt agc caa ttc acc ctg cat ggt cgc acc gca 355 Ala Pro Val Leu Leu Val Ser Gln Phe Thr Leu His Gly Arg Thr Ala aaa ggc cgg cgc cca tcg tgg tct gat gca gca cct ggt gag gtg gct 403 Lys Gly Arg Arg Pro Ser Trp Ser Asp Ala Ala Pro Gly Glu Val Ala 90 gag ccg gtg att gaa aag att gca caa ggt tta cgt gag cgc gga atc 451 Glu Pro Val Ile Glu Lys Ile Ala Gln Gly Leu Arg Glu Arg Gly Ile 110 acc gtg gaa caa gga cga ttc ggc gca atg atg aag gtc aca tcg gtt 499 Thr Val Glu Gln Gly Arg Phe Gly Ala Met Met Lys Val Thr Ser Val 125 aac gaa ggc ccc ttc acc gtt ttg gtc gag tgc tagccagtca atcctaagag 552 Asn Glu Gly Pro Phe Thr Val Leu Val Glu Cys 135 562 cttgaaacgc <210> 90 <211> 144 <212> PRT <213> Corynebacterium glutamicum <400> 90 Val Lys Ala Val Leu Thr Arg Val Ser Ser Ala Ser Val Ser Val Asp

Asp Glu Ile Val Gly Ala Ile Asp Cys Pro Asp Thr Gly Gly Ile Leu 20 25 30

Ala Leu Val Gly Val Gly Ala Ala Asp Ser Asp Asp Ala Trp Glu Thr 35 40 45

<210> 91 <211> 607 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(577) <223> RXA03260 <400> 91 cagatggctg gcagggatca gctgaccacg ttgctcaacc agcgtggtgt caaagtttct 60 actgggactg tgggatcaat tatgaacgaa tgaggagtgc gtg tca gac gaa tgc Val Ser Asp Glu Cys 1 ggg cct gga aga aca cca cgg tca gtg acc ctt tct gcc cgg acc gag Gly Pro Gly Arg Thr Pro Arg Ser Val Thr Leu Ser Ala Arg Thr Glu 1.5 10 cat att aaa aat cat atg ctc gat agc cac ggg aaa cga gac ttt acc His Ile Lys Asn His Met Leu Asp Ser His Gly Lys Arg Asp Phe Thr 25 259 gct acc gtg cct ggg acc agg ctc gtt ggt gac att acg tac tta aag Ala Thr Val Pro Gly Thr Arg Leu Val Gly Asp Ile Thr Tyr Leu Lys 40 acg ggt tcc ggg tgg ctg tat gtg gct acc gtg atc gat ttg gct acg 307 Thr Gly Ser Gly Trp Leu Tyr Val Ala Thr Val Ile Asp Leu Ala Thr 55 cgg atg gtg gtg ggg tgg tct atg gat tct aat atg cgc aca ccg ttg 355 Arg Met Val Val Gly Trp Ser Met Asp Ser Asn Met Arg Thr Pro Leu .70 75 gtg atc aat gcg ctg gct atg gcg cgt gat cat ggg tgt ctt cat cct 403 Val Ile Asn Ala Leu Ala Met Ala Arg Asp His Gly Cys Leu His Pro 90 100 gaa ggc gca att ttt cac tcc gat aga gga tcg caa tac acc tcc gag 451

Glu Gly Ala Ile Phe His Ser Asp Arg Gly Ser Gln Tyr Thr Ser Glu 110 499 cag ttc cag aca tgg tgc gcc ggc aac aag atc acc caa tcc atg gga Gln Phe Gln Thr Trp Cys Ala Gly Asn Lys Ile Thr Gln Ser Met Gly 547 ttg acc ggg gtg tgt tgg gat aac gga agt cgc gga gaa ttt ttt ctc Leu Thr Gly Val Cys Trp Asp Asn Gly Ser Arg Gly Glu Phe Phe Leu 135 597 aca ttt gaa gac cga aat gta tca cca cta tgattttgag aatcacctgt Thr Phe Glu Asp Arg Asn Val Ser Pro Leu 155 607 cggaccgaac <210> 92 <211> 159 <212> PRT <213> Corvnebacterium glutamicum <400> 92 Val Ser Asp Glu Cys Gly Pro Gly Arg Thr Pro Arg Ser Val Thr Leu Ser Ala Arg Thr Glu His Ile Lys Asn His Met Leu Asp Ser His Gly Lys Arg Asp Phe Thr Ala Thr Val Pro Gly Thr Arg Leu Val Gly Asp Ile Thr Tyr Leu Lys Thr Gly Ser Gly Trp Leu Tyr Val Ala Thr Val Ile Asp Leu Ala Thr Arg Met Val Val Gly Trp Ser Met Asp Ser Asn Met Arg Thr Pro Leu Val Ile Asn Ala Leu Ala Met Ala Arg Asp His Gly Cys Leu His Pro Glu Gly Ala Ile Phe His Ser Asp Arg Gly Ser 105 Gln Tyr Thr Ser Glu Gln Phe Gln Thr Trp Cys Ala Gly Asn Lys Ile 115 120 Thr Gln Ser Met Gly Leu Thr Gly Val Cys Trp Asp Asn Gly Ser Arg 135 Gly Glu Phe Phe Leu Thr Phe Glu Asp Arg Asn Val Ser Pro Leu 150 <210> 93 <211> 1969 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220>

<220>
<221> CDS
<222> (101)..(1939)

<223> RXA03394

<400> 93 ctgcaaagcg acgcagggag cgtaaggcga gtggcgcggg gaagcgtcga taggcaattt 60 ttaacccctg ataccccttt ccggccgggc ataaattaag gtg gta cgc atg acg Val Val Arg Met Thr aag aac gtg ctc gta tct gtt gcc tgg ccg tat gcc aac gga ccc cgt 163 Lys Asn Val Leu Val Ser Val Ala Trp Pro Tyr Ala Asn Gly Pro Arg cac att gga cat gtg gcg ggg ttt ggt gtc ccc tcc gat gtg ttc gca 211 His Ile Gly His Val Ala Gly Phe Gly Val Pro Ser Asp Val Phe Ala agg ttc cag cga atg tct ggc aac aac gtg ctc atg gtg tcc ggc acc 259 Arg Phe Gln Arg Met Ser Gly Asn Asn Val Leu Met Val Ser Gly Thr gat gag cac ggc acg cca ctt ctg gtt caa gca gac aaa gaa ggc gtc 307 Asp Glu His Gly Thr Pro Leu Leu Val Gln Ala Asp Lys Glu Gly Val acc gtt caa gac cta gcg gat aag tac aac cgc cag atc gtc gaa gac 355 Thr Val Gln Asp Leu Ala Asp Lys Tyr Asn Arg Gln Ile Val Glu Asp 75 80 ctc acc ggc ctg ggc ctg tcc tat gac ctt ttc acc cgc acc acc acc 403 Leu Thr Gly Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Leu Phe Thr Arg Thr Thr Thr 90 tcc aac cac tac gca gta gtg cag gaa ctg ttc cgt ggt ctg tac gac 451 Ser Asn His Tyr Ala Val Val Gln Glu Leu Phe Arg Gly Leu Tyr Asp 105 aac ggt tac atg atc aag gaa acc acc ctc ggt gcg att tcc cca tcc 499 Asn Gly Tyr Met Ile Lys Glu Thr Thr Leu Gly Ala Ile Ser Pro Ser 125 act ggc cgt acc ctg cca gac cgc tac att gaa ggc acc tgc cca atc 547 Thr Gly Arg Thr Leu Pro Asp Arg Tyr Ile Glu Gly Thr Cys Pro Ile 140 tgt ggc acc gac ggc gct cgt ggc gac cag tgc gac aac tgc gga aac 595 Cys Gly Thr Asp Gly Ala Arg Gly Asp Gln Cys Asp Asn Cys Gly Asn 155 cag ctc gat cca gcg gac ctg atc aac ccg gtg tcc aag atc aac ggc 643 Gln Leu Asp Pro Ala Asp Leu Ile Asn Pro Val Ser Lys Ile Asn Gly 170 175 gaa acc cca gag ttc gtt gag acc gaa cac ttc ctg ctc gac ctg cca 691 Glu Thr Pro Glu Phe Val Glu Thr Glu His Phe Leu Leu Asp Leu Pro 190 gca ctg gct gaa gca cta acc gag tgg ctg aag gga cgc gaa gac tgg 739 Ala Leu Ala Glu Ala Leu Thr Glu Trp Leu Lys Gly Arg Glu Asp Trp 205 cgt cca aac gtg ttg aag ttc tcg ctc aac ctg ctg gac gat atc cgc 787 Arg Pro Asn Val Leu Lys Phe Ser Leu Asn Leu Leu Asp Asp Ile Arg

								gac Asp								835
								aag Lys								883
								tcc Ser 270								931
								ttc Phe								979
								aac Asn								1027
								gca Ala								1075
								aac Asn								1123
								tcc Ser 350								1171
gtt Val	gtc Val	atc Ile 360	tac Tyr	gtg Val	aag Lys	gac Asp	ttc Phe 365	ctc Leu	aag Lys	gag Glu	ttc Phe	ggc Gly 370	cca Pro	gat Asp	gcg Ala	1219
								Gly								1267
								cgc Arg								1315
								act Thr								1363
								gca Ala 430								1411
								ttt Phe								1459
								atc Ile								1507
ggt	gag	gcc	aac	gcc	tac	atc	gca	gag	caa	gaa	cca	tgg	aag	ctt	gcc	1555

	WU	U3/U+1	0100							17:	3				rcı	/EFU2/1.
Gly 470	Glu	Ala	Asn	Ala	Tyr 475	Ile	Ala	Glu	Gln	Glu 480	Pro	Trp	Lys	Leu	Ala 485	
					cgc Arg											1603
_	_	_	_		gac Asp	_			_	_				_		1651
					gtg Val											1699
					atc Ile											1747
					cta Leu 555											1795
					acc Thr											1843
gtg Val					ttg Leu	_	_		_		-					1891
					gaa Glu											1939
taaa	gcat	ct t	tago	atga	a co	gago	aggt	:	•							1969
<211)> 94 .> 61 !> PR	.3														

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 94

Val Val Arg Met Thr Lys Asn Val Leu Val Ser Val Ala Trp Pro Tyr 10

Ala Asn Gly Pro Arg His Ile Gly His Val Ala Gly Phe Gly Val Pro 25 20 30

Ser Asp Val Phe Ala Arg Phe Gln Arg Met Ser Gly Asn Asn Val Leu 40

Met Val Ser Gly Thr Asp Glu His Gly Thr Pro Leu Leu Val Gln Ala

Asp Lys Glu Gly Val Thr Val Gln Asp Leu Ala Asp Lys Tyr Asn Arg

Gln Ile Val Glu Asp Leu Thr Gly Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Leu Phe

Thr Arg Thr Thr Ser Asn His Tyr Ala Val Val Glu Leu Phe

174 105 110 100 Arg Gly Leu Tyr Asp Asn Gly Tyr Met Ile Lys Glu Thr Thr Leu Gly 120 Ala Ile Ser Pro Ser Thr Gly Arg Thr Leu Pro Asp Arg Tyr Ile Glu Gly Thr Cys Pro Ile Cys Gly Thr Asp Gly Ala Arg Gly Asp Gln Cys 145 Asp Asn Cys Gly Asn Gln Leu Asp Pro Ala Asp Leu Ile Asn Pro Val Ser Lys Ile Asn Gly Glu Thr Pro Glu Phe Val Glu Thr Glu His Phe 185 Leu Leu Asp Leu Pro Ala Leu Ala Glu Ala Leu Thr Glu Trp Leu Lys 200 Gly Arg Glu Asp Trp Arg Pro Asn Val Leu Lys Phe Ser Leu Asn Leu 215 220 Leu Asp Asp Ile Arg Pro Arg Ala Met Ser Arg Asp Ile Asp Trp Gly 230 Ile Pro Ile Pro Val Glu Gly Trp Gln Asp Asn Ala Lys Lys Leu 245 250 Tyr Val Trp Phe Asp Ala Val Val Gly Tyr Leu Ser Ala Ser Ile Glu 265 Trp Ala Tyr Arg Ser Gly Asp Pro Glu Ala Trp Arg Thr Phe Trp Asn 275 280 285 Asp Pro Glu Thr Lys Ser Tyr Tyr Phe Met Gly Lys Asp Asn Ile Thr 295 Phe His Ser Gln Ile Trp Pro Ala Glu Leu Leu Gly Tyr Ala Gly Lys 305 Gly Ser Arg Gly Gly Glu Ile Gly Asp Leu Gly Val Leu Asn Leu Pro Thr Glu Val Val Ser Ser Glu Phe Leu Thr Met Ser Gly Ser Lys Phe 345 Ser Ser Ser Lys Gly Val Val Ile Tyr Val Lys Asp Phe Leu Lys Glu Phe Gly Pro Asp Ala Leu Arg Tyr Phe Ile Ala Val Ala Gly Pro Glu Asn Asn Asp Thr Asp Phe Thr Trp Asp Glu Phe Val Arg Arg Val Asn 390 395 Asn Glu Leu Ala Asn Gly Trp Gly Asn Leu Val Asn Arg Thr Val Ser Met Ala His Lys Asn Phe Gly Glu Val Pro Val Pro Gly Ala Leu Glu

425

445

Glu Ser Asp Lys Lys Ile Leu Asp Leu Ala Thr Ala Ala Phe Glu Ser

440

Val Ala Ala Asn Leu Asp Gln Ser Lys Phe Lys Ala Gly Ile Ser Glu Ile Met His Val Val Gly Glu Ala Asn Ala Tyr Ile Ala Glu Gln Glu 470 Pro Trp Lys Leu Ala Lys Asp Asp Thr Lys Arg Glu Arg Leu Ala Thr Val Leu Trp Thr Ala Leu Gln Val Val Ser Asp Cys Asn Thr Met Leu 505 Thr Pro Tyr Leu Pro His Thr Ala Gln Lys Val His Glu Thr Leu Gly 515 Arg Asp Gly Ile Trp Ala Ala Thr Pro Gln Ile Val Glu Val Thr Asn Glu Ser Pro Arg Gln Pro Ile Gly Val Gly Leu Pro Asp Pro Glu His 555 Thr Tyr Pro Val Ile Met Gly Asp Tyr Lys Thr Gln Leu Ala Lys Trp 570 Gln Arg Ile Asp Val Val Pro Gly Thr Thr Leu Glu Lys Pro Ala Pro 580 585 590 Leu Ile Ala Lys Leu Asp Pro Glu Leu Gly Glu Thr Gly Pro Glu Trp 600 595 Ala Pro Val Gln Asn 610 <210> 95 <211> 3016 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(2986) <223> RXA03674 <400> 95 teceeqeage ceaceacegt gggetgeggg gtgtggegtt tttgecacaa agtggacegt 60 115 attcgcaaat actttgttaa gacgcgttaa tctttaacct atg tct gaa tca ggt Met Ser Glu Ser Gly 163 gcg cta agt tct act gac tct cta tcc ccg ggt gtc acc att gaa gtc Ala Leu Ser Ser Thr Asp Ser Leu Ser Pro Gly Val Thr Ile Glu Val 10 211 cga gat gaa att tgg ctg gtt act cac gtt act cgc tcc aca gat ggt Arg Asp Glu Ile Trp Leu Val Thr His Val Thr Arg Ser Thr Asp Gly 25 ttt agg gtt aaa gct cgt ggt ctc tct gat tat gtg cgg gac cac gaa 259 Phe Arg Val Lys Ala Arg Gly Leu Ser Asp Tyr Val Arg Asp His Glu 40 50 307 gct acg ttc ttc acc gca ctt gat aaa gat ttg aag gtc att gac cct

										T.)	5					
Ala	Thr 55	Phe	Phe	Thr	Ala	Leu 60	Asp	Lys	Asp	Leu	Lys 65	Val	Ile	Asp	Pro	
				gtc Val												355
				gag Glu 90												403
				tcc Ser												451
				gcc Ala												499
				att Ile												547
				ttg Leu												595
				acc Thr 170												643
_				ttt Phe											-	691
				cgc Arg												739
				gtg Val		Val	Ser	Met	Asp		Leu	Lys				787
				cta Leu												835
_				gca Ala 250												883
				cct Pro												931
				gat Asp												979
				gtg Val												1027
cag	cgt	ctg	atc	att	cgt	cgc	cat	cgc	aat	agc	cct	gag	gtt	tca.	ggt	1075

										Τ./	/					
G1 31	n Arg O	Leu	Ile	Ile	Arg 315	Arg	His	Arg	Asn	Ser 320	Pro	Glu	Val	Ser	Gly 325	
	t gtg e Val															1123
	c gct 1 Ala															1171
	g tgg l Trp															1219
	c tgg o Trp 375															1267
_	a aca ı Thr O				_			_	_		-		_	_		1315
_	c gcc g Ala		_											-	_	1363
	c tca Ser															1411
	g aag L Lys															1459
	act Thr 455															1507
	e ccc Pro			Ile		Val	Met	His		Gly	Leu			Gln		1555
	a atg n Met															1603
	atg Met				_	_	_									1651
	tgc Cys															1699
	cag Gln 535															1747
	tcc Ser															1795
ggt	g a a	gtc	cat	gtg	ctg	gag	agg	ctc	atg	gag	cgc	gaa	cat	gag	gcg	1843

										1/	0					
Gly	Glu	Val	His	Val 570	Leu	Glu	Arg	Leu	Met 575	Glu	Arg	Glu	His	Glu 580	Ala	
		ttg Leu													gag Glu	1891
		gaa G l u 600														1939
		gat Asp	_		_	_				_		_			_	1987
		gat Asp														2035
		gca Ala														2083
	-	gca Ala														2131
		gaa Glu 680														2179
		ccg Pro														2227
		aat Asn														2275
		gat Asp		Leu	Pro	Gln		Tyr	Val	Ala					Lys	2323
_		ctc Leu														2371
	_	gcg Ala 760	_			_	_				_		_			2419
		ggc Gly														2467
		acc Thr														2515
		cca Pro														2563
caa	att	gtg	tct	cgt	tct	ttt	gtg	gct	tct	tct	ggc	ccc	ttt	gat	act	2611

Gln	1/9															
	Ile	Val	Ser 825	Arg	Ser	Phe	Val	Ala 830	Ser	Ser	Gly	Pro	Phe 835	Asp	Thr	
_	-	ctg Leu 840		_											_	2659
		gcc Ala														2707
_		att Ile			_	-	_	_	-	-	-	-		-		2755
	_	atc Ile	-	-	_	_	_	_			_	_				2803
_	_	cga Arg	-	_	_					_	-		-			2851
_		cgt Arg 920			_		_		_			-		_		2899
_	_	aat Asn	-				-	_				_			-	2947
	-++	c++	~~~	a > a	000			L 4	224							2006
gtc Val 950		Leu	_	_		-		_			_	_	taad	cacaa	tug	2996
Val 950	Ile		Pro	Gln	Pro 955	-		_		Thr	_	_	taad	cacaa	icg	3016
Val 950 agts <210 <211 <212	Ile gcatt)> 96 .> 96 ?> PF	Leu etg a	Pro	Gln	Pro 955	Ala	Thr	Leu		Thr	_	_	taad	cacas	acg	
Val 950 agtg <210 <211 <212 <213 <400	Ile gcatt)> 96 -> 96 -> PF -> Co	Leu itg a 52 RT oryne	Pro	Gln	Pro 955 t	Ala	Thr	Leu a	Asn	Thr 960	Glu	Val				
Val 950 agtg <210 <211 <212 <213 <400	Ile gcatt)> 96 -> 96 -> PF -> Co	Leu itg a 52 RT oryne	Pro	Gln	Pro 955 t	Ala	Thr	Leu a	Asn	Thr 960	Glu	Val				
Val 950 agts <210 <211 <212 <213 <400 Met 1	Ile gcatt > 96 > 96 > PF 6> Co > 96 Ser	Leu itg a 52 RT oryne	Pro attco	Gln ceriu Gly 5	Pro 955 et im gl	Ala	Thr nicu	Leu	Thr 10	Thr 960	Glu	Val	Ser	Pro 15	Gly	
Val 950 agts <210 <211 <212 <213 <400 Met 1 Val	Ile gcatt)> 96 .> 96 2> PF 6> Co Ser Thr	Leu tg a 52 RT oryne Glu	Pro attcg	Gln gatco ceriu 5 Val	Pro 955 et im gl Ala Arg	Ala Leu Asp	Thr nicu Ser Glu	Leu Ser Ile 25	Thr 10 Trp	Thr 960 Asp	Ser Val	Val Leu Thr	Ser His 30	Pro 15 Val	Gly	
Val 950 agts <210 <211 <212 <213 <400 Met 1 Val Arg	Ile gcatt 96 > 96 > 96 > PF S C C Thr Ser	Leu tg a 52 RT oryne Glu Ile	Pro Attog	Gln Gly 5 Val	Pro 955 ct mm gl Ala Arg	Ala Leu Asp Arg	Thr micur Ser Glu Val 40	Leu Ser Ile 25 Lys	Thr 10 Trp Ala	Thr 960 Asp Leu Arg	Ser Val Gly	Leu Thr Leu 45	Ser His 30 Ser	Pro 15 Val Asp	Gly Thr Tyr	
Val 950 agts <210 <211 <212 <213 <400 Met 1 Val Arg Val	Ile gcatt 96 > 96 > 96 > PF Ser Thr Ser Arg 50	Leu ttg a 52 RT oryne Glu Ile Thr 35	Pro Attog	Gln Gly 5 Val Gly Glu	Pro 955 ct m gl Ala Arg Phe Ala	Ala Leu Asp Arg Thr 55	Ser Glu Val 40 Phe	Leu Ser Ile 25 Lys Phe	Thr 10 Trp Ala Thr	Asp Leu Arg	Ser Val Gly Leu 60	Leu Thr Leu 45	Ser His 30 Ser Lys	Pro 15 Val Asp	Gly Thr Tyr Leu	

Pro Val Pro Leu Tyr Gln Glu Ser Leu Ser Val Ala Asp Gln Met Leu

110 100 105 Ala Asp Pro Leu Glu Tyr Gln Leu Ala Ala Val Arg Lys Thr Leu Ser 120 Ser Ala Asn Leu Arg Pro Arg Val Leu Ile Ala Asp Ala Val Gly Leu 135 Gly Lys Thr Leu Glu Met Gly Met Ile Leu Ala Glu Leu Ile Arg Arg 150 Gly Arg Gly Glu Arg Ile Leu Val Val Thr Pro Arg His Ile Met Glu Gln Phe Gln Glu Met Trp Thr Arg Phe Ala Ile Pro Leu Val Arg 185 Leu Asp Ser Val Gly Ile Gln Gln Val Arg Gln Lys Leu Pro Ala Ser Arg Asn Pro Phe Thr Tyr Phe Pro Arg Val Ile Val Ser Met Asp Thr 215 210 Leu Lys Ser Pro Lys Tyr Arg Ala Gln Leu Glu Lys Val His Trp Asp 235 Ala Val Val Ile Asp Glu Ile His Asn Ala Thr Asn Ala Gly Thr Gln 250 Asn Asn Glu Leu Ala Arg Thr Leu Ala Pro Thr Ala Glu Ala Leu Ile 265 Leu Ala Ser Ala Thr Pro His Asn Gly Asp Pro Glu Ser Phe Lys Glu 280 Ile Leu Arg Leu Leu Asp Pro Thr Ala Val Met Pro Asp Gly Thr Ile 295 Asp Ala Glu Ala Ala Gln Arg Leu Ile Ile Arg Arg His Arg Asn Ser 315 305 310 Pro Glu Val Ser Gly Phe Val Gly Glu Lys Trp Ala Pro Arg Asn Glu Pro Gln Asn Phe Leu Val Ala Ala Ser Lys Glu Glu Asn Gly Val Ala 340 345 Ala Glu Leu Asn His Val Trp Ile Ser Pro Gly Ala Ser Asn Pro Ile Lys Asp Arg Leu Phe Pro Trp Thr Leu Val Lys Ala Phe Leu Ser Ser 370 Pro Ala Ala Leu Gly Glu Thr Val Ser Asn Arg Leu Lys Lys Ala Ser Ala Pro Glu Glu Lys Arg Ala Leu Glu Thr Leu Ser Gln Leu Asn Ser Ala Ile Thr Pro Gln Thr Ser Gln Lys Tyr Gln Ser Leu Leu Ser Tyr 425 Leu Gly Asp Ile Gly Val Lys Lys Asn Ser Asp Thr Arg Val Val Ile 440 445

Phe Ser Glu Arg Val Ala Thr Leu His Trp Leu Gln Glu Asn Leu Ile 450 455 460

Arg Asp Leu Lys Met Pro Pro Asn Ser Ile Ala Val Met His Gly Gly 465 470 475 480

Leu Pro Asp Gln Glu Gln Met Arg Leu Val Asp Glu Phe Lys Lys Thr 485 490 495

Asp Ser Pro Ile Arg Ile Met Ile Thr Gly Asp Val Ala Ser Glu Gly 500 505 510

Val Asn Leu His Thr Leu Cys His Asn Leu Val His Tyr Asp Ile Pro 515 520 525

Trp Ser Leu Ile Arg Ile Gln Gln Arg Asn Gly Arg Ile Asp Arg Tyr 530 540

Gly Gln Thr His Asn Pro Ser Ile Val Thr Phe Leu Leu Asp Pro Ala 545 550 555 560

Glu Asp Ser Lys Val Gly Glu Val His Val Leu Glu Arg Leu Met Glu 565 570 . 575

Arg Glu His Glu Ala His Ser Leu Leu Gly Asp Ala Ala Ser Leu Met 580 585 590

Gly Lys His Ser Glu Arg Leu Glu Glu Glu Thr Ile Arg Glu Val Leu 595 600 605

Arg Gly Ala Gln Asn Phe Asn Asp Ala Val Ala Asp Pro Ala Glu Val 610 615 620

Leu Glu Asn Pro Ala Gly Leu Asp Asp Ile Asp Trp Leu Leu Ala Gln 625 630 635 640

Ile Ala Gln Ala Asp Ala Lys Ala Glu Thr Glu Ala Glu Ala Glu Thr 645 650 655

Glu Asn Gln Thr Ala Pro Asp Ala Ala Ser Asn Ser Thr Gln His Ala
660 665 670

Gln Arg Arg Leu Tyr Ala Gln Glu Ser Ser Phe Leu Tyr Asp Cys Leu 675 680 685

Leu Glu Gly Phe Asn Asn Val Pro Glu Asp Ser Ile Asn Arg Gly Gly 690 695 700

Val Gly Phe Lys Lys His Asp Asn Asp Ile Val Glu Leu Thr Pro Thr 705 710 715 720

Asp Asp Leu Arg Arg Leu Asp Phe Leu Pro Gln Asp Tyr Val Ala 725 730 735

Ala Arg Lys Val Lys Glu Asp Leu Leu Leu Ala Ser Thr Leu Met Arg
740 745 750

Gly Gln Glu Arg Leu Asn Ala Ala Arg Thr Gly Glu Asp Gly Ser Thr
755 760 765

Trp Pro Ser Ala His Tyr Leu Gly Pro Leu His Pro Val Thr Ser Trp 770 775 780

Ala Ala Asp Arg Ala Leu Ala Thr Met Pro Arg Ser Glu Ile Pro Ala

WO 03/040180 PCT/EP02/12138

785	790	795 800											
Ala Ser Gly Lys Val		Leu Leu Met Ser Thr Leu 815											
Ser Asn Arg Arg Gly 820	Gln Ile Val Ser Arg 825	Ser Phe Val Ala Ser Ser 830											
Gly Pro Phe Asp Thr 835	Glu Val Leu Ser Asp 840	Pro Ile Gln Trp Leu His 845											
Ser Ile Gly Leu Asp 850	Glu Thr Ala Ile Asn 855	Pro Gly Thr Ala Ala Leu 860											
Pro Asp Asp Ile Glu 865	Gln Leu Ile Ser Leu 870	Ala Val Gln Ala Ala Arg 875 880											
Gly Glu Ile Arg Pro 885	Leu Met Ile Ala Ala 890	Arg Ala Gln Ala Gln Thr 895											
Arg Val Glu His Trp 900	Ala Lys Arg Ala Glu 905	Ala Trp Asn Asn Lys Arg 910											
Ser Gly Ala Ala Ser 915	Thr Ser Arg Thr Ala 920	Arg Thr Ala Lys Leu Ile 925											
Glu Glu Gln Gln Lys 930	Leu Ser Asn Ala Leu 935	Glu Pro Asp Arg Glu Leu 940											
Ile Arg Pro Leu Ala 945	Val Ile Leu Pro Gln 950	Pro Ala Thr Leu Asn Thr 955 960											
Glu Val													
<210> 97 <211> 1624 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum													
<213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDs <222> (101)(1594) <223> RXA03793													
<400> 97 atggaaagaa gctaggcg	ga aagggcgtta agtactt	tgcc atttaatcct cagcatcact 6	0										
cggatcagtc ggagatgt	cg atgaaaatgc accagga	agcc gtg gag agc agc atg 1 Val Glu Ser Ser Met 1 5	15										
_		gct aaa aag acc gca cgc 1 Ala Lys Lys Thr Ala Arg 20	63										
		gca acc cca ttg gga gtc 2: Ala Thr Pro Leu Gly Val 35	11										
		gcg cgc agc atc gat gga 29 Ala Arg Ser Ile Asp Gly 50	59										

						•			
		gtt Val							307
		cct Pro							355
		aag Lys 90							403
		gct Ala							451
		gag Glu							499
		gta Val							547
		ggt Gly							595
		gaa Glu 170							643
		acc Thr							691
		gtt Val							739
		gaa Glu							787
		ttc Phe							835
		gac Asp 250							883
		ctg Leu							931
		ggc Gly							979
		ctg Leu							1027

									- O	ı.					
		_			acc Thr 315	_					_				1075
	_	_		_	gac Asp										1123
_					aac Asn		_								1171
_	_			_	gaa Glu			_	_	_			_	_	1219
					aag Lys										1267
					caa Gln 395										1315
					gac Asp										1363
					caa Gln										1411
					ggc Gly										1459
					tta Leu										1507
					cag Gln 475										1555
					cag Gln							taaa	acco	ca	1604
gtcg	ggct	ca a	gacc	gggg	cc										1624

<210> 98

<211> 498

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 98

Val Glu Ser Ser Met Val Glu Asn Asn Val Ala Lys Lys Thr Val Ala 1 5 10 15

Lys Lys Thr Ala Arg Lys Thr Ala Arg Lys Ala Ala Pro Arg Val Ala 20 25 30

										10:	.				
Thr	Pro	Leu 35	Gly	Val	Ala	Ser	Glu 40	Ser	Pro	Ile	Ser	Ala 45	Thr	Pro	Ala
Arg	Ser 50	Ile	Asp	Gly	Thr	Ser 55	Thr	Pro	Val	Glu	Ala 60	Ala	Asp	Thr	Ile
Glu 65	Thr	Thr	Ala	Pro	Ala 70	Ala	Lys	Ala	Pro	Ala 75	Ala	Lys	Ala	Pro	Ala 80
Lys	Lys	Val	Ala	Lys 85	Lys	Thr	Ala	Arg	Lys 90	Ala	Pro	Ala	ŗλε	Lys 95	Thr
Val	Ala	Lys	Lys 100	Ala	Thr	Thr	Ala	Lys 105	Ala	Ala	Pro	Ala	Thr 110	Ala	Lys
Asp	Glu	Asn 115	Ala	Pro	Val	Asp	Asp 120	Asp	Glu	Glu	Asn	Leu 125	Ala	Gln	Asp
Glu	Gln 130	Asp	Phe	Asp	Gly	Asp 135	Asp	Phe	Val	Asp	Gly 140	Ile	Glu	Asp	Glu
Glu 145	Asp	Glu	Asp	Gly	Val 150	Glu	Ala	Leu	Gly	Glu 155	Glu	Ser	Glu	Asp	Asp 160
Glu	Glu	Asp	Gly	Ser 165	Ser	Val	Trp	Asp	Glu 170	Asp	Glu	Ser	Ala	Thr 175	Leu
Arg	Gln	Ala	Arg 180	Lys	Asp	Ala	Glu	Leu 185	Thr	Ala	Ser	Ala	Asp 190	Ser	Val
Arg	Ala	Tyr 195	Leu	Lys	Gln	Ile	Gly 20 0	Lys	Val	Ala	Leu	Leu 205	Asn	Ala	Glu
Gln	Glu 210	Val	Ser	Leu	Ala	Lys 215	Arg	Ile	Glu	Ala	Gly 220	Leu	Tyr	Ala	Thr
His 225	Arg	Met	Glu	Glu	Met 230	G1u	Glu	Ala	Phe	Ala 235	Ala	Gly	Asp	Lys	Asp 240
Ala	Lys	Leu	Thr	Pro 245	Ala	Val	Lys	Arg	Asp 250	Leu	Arg	Ala	Ile	Ala 255	Arg
Asp	Gly	Arg	Lys 260	Ala	Lys	Asn	His	Leu 265	Leu	Glu	Ala	Asn	Leu 270	Arg	Leu
Val	Val	Ser 275	Leu	Ala	Lys	Arg	Tyr 280	Thr	Gly	Arg	Gly	Met 285	Ala	Phe	Leu
Asp	Leu 290	Ile	Gln	Glu	Gly	Asn 295	Leu	Gly	Leu	Ile	Arg 300	Ala	Val	Glu	Lys
Phe 305	Asp	Tyr	Ser	Lys	Gly 310	Tyr	Lys	Phe	Ser	Thr 315	Tyr	Ala	Thr	Trp	Trp 320
Ile	Arg	Gln	Ala	11e 325	Thr	Arg	Ala	Met	Ala 330	Asp	Gln	Ala	Arg	Thr 335	Ile
Arg	Ile	Pro	Val 340	His	Met	Val	Glu	Val 345	Ile	Asn	Lys	Leu	Gly 350	Arg	Ile
Gln	Arg	Glu 355	Leu	Leu	Gln	Glu	Leu 360	Gly	Arg	Glu	Pro	Thr 365	Pro	Gln	Glu
Leu	Ser	Lys	Glu	Met	Asp	Ile	Ser	Glu	Glu	Lys	Val	Leu	Glu	Ile	Gln

186 370 375 380 Gln Tyr Ala Arg Glu Pro Ile Ser Leu Asp Gln Thr Ile Gly Asp Glu 390 395 Gly Asp Ser Gln Leu Gly Asp Phe Ile Glu Asp Ser Glu Ala Val Val Ala Val Asp Ala Val Ser Phe Thr Leu Leu Gln Asp Gln Leu Gln Asp 425 Val Leu Glu Thr Leu Ser Glu Arg Glu Ala Gly Val Val Lys Leu Arg 440 Phe Gly Leu Thr Asp Gly Met Pro Arg Thr Leu Asp Glu Ile Gly Gln 455 Val Tyr Gly Val Thr Arg Glu Arg Ile Arg Gln Ile Glu Ser Lys Thr Met Ser Lys Leu Arg His Pro Ser Arg Ser Gln Val Leu Arg Asp Tyr Leu Asp <210> 99 <211> 1234 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (101)..(1204) <223> RXA06048 <400> 99 agcegetget geagegtgte agacattttg geegteacet tateaagttt gtggtgetat 60 cttagagcgc tatatccagc agggtgccca gtttgggtgg atg ttg ttg ctt act Met Leu Leu Leu Thr 1 gaa ggc caa gcg ctt aac cct gat ggt cag gga tat cgt cag cgg ttt 163 Glu Gly Gln Ala Leu Asn Pro Asp Gly Gln Gly Tyr Arg Gln Arg Phe 10 atg aat ggg ttt atc tat tgg cat cct tct act ggt gcg cac gcq gtt 211 Met Asn Gly Phe Ile Tyr Trp His Pro Ser Thr Gly Ala His Ala Val 25 aat aat tac agt gca caa gtc tgg gag cgt aac ggt tgg gag tct ggg Asn Asn Tyr Ser Ala Gln Val Trp Glu Arg Asn Gly Trp Glu Ser Gly 40 tgg atg ggg tat ccc act ggt ggt gaa gtc cct gtg tct ggg tct aat 307 Trp Met Gly Tyr Pro Thr Gly Gly Glu Val Pro Val Ser Gly Ser Asn 55 60

ccg att gat ggt gag ttg agt ggg tgg gtg caa acc ttc caa ggt ggg

Pro Ile Asp Gly Glu Leu Ser Gly Trp Val Gln Thr Phe Gln Gly Gly

80

75

70

										10	,					
	gt g Val															403
	ggg Gly															451
-	ctt Leu															499
	aga Arg 135															547
	gga Gly															595
	gga Gly															643
-	tat Tyr		-		-	-		-	-		-			-		691
-	gct Ala									-			-			739
	ttt Phe 215	-				-	-					-			_	787
	aat Asn		_			_										835
	caa Gln	-		_			_					-	_	_	-	883
	gga Gly															931
-	tgc Cys	_					_		_	_						979
	tac Tyr 295															1027
	ttc Phe															1075
	tgc Cys															1123

cag gtg act tat gaa ggt cag ccg tat ttc ggt cag tca gca act aac 1171
Gln Val Thr Tyr Glu Gly Gln Pro Tyr Phe Gly Gln Ser Ala Thr Asn
345 350 355

tac gct tat ctt ccg tgt acg ata gac cgt agt taacataagg aatggaatag 1224 Tyr Ala Tyr Leu Pro Cys Thr Ile Asp Arg Ser 360 365

gagaattgcg . 1234

<210> 100

<211> 368

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 100

Met Leu Leu Leu Thr Glu Gly Gln Ala Leu Asn Pro Asp Gly Gln Gly
1 5 10 15

Tyr Arg Gln Arg Phe Met Asn Gly Phe Ile Tyr Trp His Pro Ser Thr 20 25 30

Gly Ala His Ala Val Asn Asn Tyr Ser Ala Gln Val Trp Glu Arg Asn 35 40 45

Gly Trp Glu Ser Gly Trp Met Gly Tyr Pro Thr Gly Gly Glu Val Pro 50 55 60

Val Ser Gly Ser Asn Pro Ile Asp Gly Glu Leu Ser Gly Trp Val Gln 65 70 75 80

Thr Phe Gln Gly Gly Arg Val Tyr Arg Ser Pro Val Leu Asp Gly Phe 85 90 95

Gln Val Ala Ser Ile Asn Gly Leu Ile Leu Asp Lys Trp Leu Glu Leu
100 105 110

Gly Gly Pro Asp Ser Asp Leu Gly Phe Pro Ile Ala Asp Glu Ala Val 115 120 125

Thr Ala Asp Gly Val Gly Arg Phe Ser Val Phe Gln Asn Gly Val Val 130 135 140

Tyr Trp His Pro Gln His Gly Ala His Pro Ile Leu Gly Asn Ile Tyr 145 150 155 160

Ser Ile Trp Arg Glu Glu Gly Ala Glu Ser Gly Glu Phe Gly Tyr Pro 165 170 175

Ile Gly Asp Pro Glu Lys Tyr Thr Glu Asn Met Ala Asn Gln Val Phe
180 185 190

Glu Lys Gly Glu Leu Ala Ala Asn Leu Tyr Pro Asn Pro Leu Glu Ala 195 200 205

Phe Ile Glu Phe Leu Pro Phe Ala Asn Leu Glu Glu Ala Ile Glu Tyr 210 215 220

Phe Glu Asn Gly Leu Ser Asn Ser Arg Val Glu Ala Asn Ser Leu Asn 225 230 235 240

Ala Lys Lys Asp Ser Ile Gln Cys Gln Ser Gln Ser Ala Asn Ile His

189 250 255 245 Val Arg Thr Lys Ser Asp Gly Val Gly Ile Arg Val Pro Lys Ile Gly 265 Phe Lys Ala Arg Met Asp Cys Asp Leu Pro Gly Thr Val Ser Asp Val Val Gly Tyr Gly Trp Ile Tyr Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Trp Ala Gln 295 Ala Ala Tyr Ala Gln Gln Phe Phe Gly Asn Arg Asn Ser Val Val Gln Thr Asn Leu Glu Ala Gly Cys Ser Gly Glu Lys Asn Thr Leu Phe Trp 330 Gly Thr Ser Tyr Phe Gln Val Thr Tyr Glu Gly Gln Pro Tyr Phe Gly 345 Gln Ser Ala Thr Asn Tyr Ala Tyr Leu Pro Cys Thr Ile Asp Arg Ser 360 <210> 101 <211> 4560 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum <220> <221> CDS <222> (1) . . (4560) <223> RXA07005 atg gct aaa agc att ctt tcc cga ttc cga cct caa gta gcg gag tgg 48 Met Ala Lys Ser Ile Leu Ser Arg Phe Arg Pro Gln Val Ala Glu Trp ttc cgg gat gtc ttt gca tct ccg acc cct gtt cag gag gga acg tgg 96 Phe Arg Asp Val Phe Ala Ser Pro Thr Pro Val Gln Glu Gly Thr Trp 25 144 gag gcg gta tct aag ggg aag aat gcc ctc gtg gtg gcg ccg acc ggt Glu Ala Val Ser Lys Gly Lys Asn Ala Leu Val Val Ala Pro Thr Gly 40 agt ggt aaa acc ttg gct gcg ttt ttg tgg gcg tta gat tcc ctc act 192 Ser Gly Lys Thr Leu Ala Ala Phe Leu Trp Ala Leu Asp Ser Leu Thr 240 gaa caa aca ggt caa cag gtt tta gac acg gga aca ccg gtg cct gtt Glu Gln Thr Gly Gln Gln Val Leu Asp Thr Gly Thr Pro Val Pro Val 75

cgt ggt ggg aaa gtg aaa gtg ctc tac att tcc cca ctc aaa gcg ctt

Arg Gly Gly Lys Val Lys Val Leu Tyr Ile Ser Pro Leu Lys Ala Leu

ggc gtg gat gta gaa aat aat ctg cgt gca ccg ttg acc ggt att gcg

Gly Val Asp Val Glu Asn Asn Leu Arg Ala Pro Leu Thr Gly Ile Ala

288

190 100 105 110 agg act gcc tct cgg atg ggt ttg gat gtg ccc aat atc act gtg gcg 384 Arg Thr Ala Ser Arg Met Gly Leu Asp Val Pro Asn Ile Thr Val Ala 120 gtt cgt tcg ggt gat acg cca tcg gcg gag cgg gcc cgg cag gtg cgt 432 Val Arg Ser Gly Asp Thr Pro Ser Ala Glu Arg Ala Arg Gln Val Arg 135 aag cct cca gac att ttg atc acc act ccg gag tcg gcg tat ttg atg 480 Lys Pro Pro Asp Ile Leu Ile Thr Thr Pro Glu Ser Ala Tyr Leu Met 145 150 ttg acc tca aaa gcg ggg gcg acc ctt tcg gat gtt gat gtg gtg atc Leu Thr Ser Lys Ala Gly Ala Thr Leu Ser Asp Val Asp Val Ile 170 ate gat gaa ate cae gee atg gee gga ace aaa egg gga gtg cat etg 576 Ile Asp Glu Ile His Ala Met Ala Gly Thr Lys Arg Gly Val His Leu 180 185 gcg ttg acg ctg gag cgt ttg gaa aag ctc gtg ggg cgg cct gtg cag 624 Ala Leu Thr Leu Glu Arg Leu Glu Lys Leu Val Gly Arg Pro Val Gln 195 200 cga gtt ggt ttg tct gca acg gtg cgt cct ttg gaa acg gtg gcg ggt 672 Arg Val Gly Leu Ser Ala Thr Val Arg Pro Leu Glu Thr Val Ala Gly 210 215 220 ttc ttg ggc ggt ggc aga ccc gtt gag att gtg gct cca cct gcg gag 720 Phe Leu Gly Gly Arg Pro Val Glu Ile Val Ala Pro Pro Ala Glu 225 230 aaa aag tgg gat ctc act gtc act gtg ccg gtg gaa gac atg tcg gat Lys Lys Trp Asp Leu Thr Val Thr Val Pro Val Glu Asp Met Ser Asp 245 250 255 ttg ccg gtt cag gag ccg gga tca act att ggt gaa cta gtc atg gat 816 Leu Pro Val Gln Glu Pro Gly Ser Thr Ile Gly Glu Leu Val Met Asp 260 265 gat ccg ttg ggg att act ggc gaa tca gcg ctg cct act caa ggc tcg 864 Asp Pro Leu Gly Ile Thr Gly Glu Ser Ala Leu Pro Thr Gln Gly Ser 275 280 att tgg cca cac att gag cag cag gtg tac aac cag gtg atg tcg gcg 912 Ile Trp Pro His Ile Glu Gln Gln Val Tyr Asn Gln Val Met Ser Ala 290 295 aaa tcg acc atc gtg ttt gta aat tcc agg cgt tcc gcg gag cgt tta 960 Lys Ser Thr Ile Val Phe Val Asn Ser Arg Arg Ser Ala Glu Arg Leu 305 310 acc agt egg ttg aat gaa atc tgg geg atg gaa cac gat eeg gaa teg 1008 Thr Ser Arg Leu Asn Glu Ile Trp Ala Met Glu His Asp Pro Glu Ser 325 330 335 ctg tcg ccg cag ctg cga aga gat ccg gcg cag att atg tcg tca gcg 1056 Leu Ser Pro Gln Leu Arg Arg Asp Pro Ala Gln Ile Met Ser Ser Ala 340

gat gtg gca gga aaa gca cca cag gtg atc gca cgt gcg cac cac gga

										19	1					
Asp	Val	Ala 3 5 5	Gly	Lys	Ala	Pro	Gln 360	Val	Ile	Ala	Arg	Ala 365	His	His	Gly	
															gaa Glu	1152
						att Ile										1200
						ctg Leu						_		_		1248
						cgc Arg										1296
						ttt Phe										1344
						cag Gln 455		_	_	_				-		1392
						gcg Ala										1440
						gat Asp										1488
	-	-				tac Tyr		_	_	_	_	-	_		_	1536
						agc Ser										1584
						gtg Val 535										1632
						cgc Arg	_	_			_					1680
	-	_		-		gga Gly	_			_		-				1728
cgc Arg	-					gag Glu	_	_	_				_			1776
gat Asp						gcg Ala										1824
cgc	gac	cag	gta	ctg	gtc	act	ccc	gcg	ccg	ggt	cac	acg	ggt	cgg	ctg	1872

												4					
i	Arg	Asp 610	Gln	Val	Leu	Val	Thr 615	Pro	Ala	Pro	Gly	His 620	Thr	Gly	Arg	Leu	
1						gat Asp 630											1920
	-			_		cga Arg	_	_				_			_		1968
_	_					gcg Ala											2016
						ggt Gly											2064
_		_			_	gaa Glu			_		_		_	_			2112
I						gta Val 710											2160
						acc Thr											2208
						cgg Arg											2256
						gag Glu											2304
	_					gcg Ala	_		_	_	. –		-			-	2352
Z	_					ctg Leu 790											2400
	_					caa Gln	_										2448
	_		_	_		ccg Pro			_	_			_	_	_		2496
		_				ctg Leu		_							_		2544
	ln	_				aga Arg			_							_	2592
c	ct	ttt	gcc	tcc	gca	t t g	ctg	ttc	aat	tac	acc	ggt	gca	ttc	atg	tac	2640

										. حال	_					
Pro 865	Phe	Ala	Ser	Ala	Leu 870	Leu	Phe	Asn	Tyr	Thr 875	G1y	Ala	Phe	Met	Tyr 880	
	ggc Gly															2688
	ccg Pro											_				2736
	ctg Leu	_		_			-	-					_	-		2784
	ggc Gly 930	_	_			_			_	_		_	_		_	2832
	att Ile			_			_	-	_	_		-				2880
	gaa G1u															2928
	cgg Arg															2976
	tta Leu					Pro					Ala					3024
Ile	acg Thr 1010	_			Glu					Arg			_			3072
	cca Pro 5		Thr		Asn	Asp	Leu	Ala	Glu		Phe		-			3120
	acg Thr		Ile					Ser					Glu			3168
	cga Arg	Gln					${ t Gln}$					Thr				3216
_	atc Ile 1			_	_	Ser		_			Arg					3264
Pro	gta Val 1090				Ala					Leu						3312
	gca Ala					Thr					Gly					3360
tac	aca	gtc	att	gaa	caa	ctc	gcc	ggt	gta	cgt	ctt	CCC	gcc	agt	g c g	3408

Tyr	Thr	Val	Ile	Glu 1125	Gln	Leu	Ala		Val 1130	Arg	Leu	Pro		Ser 1135	Ala	
		Asp	ctc Leu 1140				Arg					Tyr		Pro	atc Ile	3456
	Leu		gag Glu			Ser					Leu					3504
Gly		-	gga Gly	_	Arg	_	_			Ser	_	_			_	3552
	Ala		cag Gln			Gly					Ser					3600
			gtg Val 1					Arg					Phe	-		3648
	-	Ile	ctc Leu L220	-			Phe					Āla	-	_		3696
	Ala		tgg Trp			Val					Val					3744
Phe			atc Ile		Ala					Gly						3792
_	Lys	-	cga Arg			Arg			-	-	Thr	-				3840
	_	_	gtg Val 1			-	_	Arg		-		_	Leu			3888
		Ala	gac Asp 300				Arg					Gly				3936
ctc Leu	Asp	_	tac Tyr			Leu		_		_	Val	-	-	_	-	3984
Ile			GJÀ âàc		Ala	_				Val						4032
gaa Glu 1345	Ser				_	Arg	-				Glu				-	4080
gcg Ala			Ser					Ile					Gly			4128
gat	tcc	ccc	gac	gtc	gaa	ggc	tgg	CCC	tcc	ggc	gcc	acc	gac	cca	gac	4176

Asp	Ser		Asp 1380	Val	Glu	Gly		Pro L385	Ser	Gly	Ala		Asp 1390	Pro	Asp	
-	tac Tyr			_		Ala	_				Pro					4224
Leu	ccc Pro 1410				Gln					Ala						4272
	ctt Leu	_	_			Leu		_			Thr	_				4320
	ctc Leu		Val					Ile					Thr			4368
	aca Thr	Tyr					Val					${\tt Gly}$				4416
	gac Asp 1					Glu					His					4464
Thr	ccg Pro L490				Arg					Val						4512
	gat Asp	-				Arg					Gly					4560
<213 <212)> 10 L> 15 2> PF	20														
	3> Cc		ebact	eriu	ım gl	lutan	icun	n								
)> 10	oryne								5	67	TT 7	20.7	Q1	(1)	
		oryne							Arg 10	Pro	Gln	Val	Ala	Glu 15	Trp	
Met 1)> 10	oryne)2 Lys	Ser	Ile 5	Leu	Ser	Arg	Phe	10					15		
Met 1 Phe)> 1(Ala	oryne)2 Lys Asp	Ser Val 20	Ile 5 Phe	Leu Ala	Ser Ser	Arg Pro	Phe Thr 25	10 Pro	Val	Gln	Glu	Gly 30	15 Thr	Trp	
Met 1 Phe Glu)> 1(Ala Arg)2 Lys Asp Val 35	Ser Val 20 Ser	Ile 5 Phe Lys	Leu Ala Gly	Ser Ser Lys	Arg Pro Asn 40	Phe Thr 25	10 Pro Leu	Val Val	Gln Val	Glu Ala 45	Gly 30 Pro	15 Thr Thr	Trp	
Met 1 Phe Glu Ser)> 10 Ala Arg Ala Gly	Dryne 02 Lys Asp Val 35	Ser Val 20 Ser	Ile 5 Phe Lys Leu	Leu Ala Gly Ala	Ser Ser Lys Ala	Arg Pro Asn 40 Phe	Phe Thr 25 Ala Leu	10 Pro Leu Trp	Val Val Ala	Gln Val Leu 60	Glu Ala 45 Asp	Gly 30 Pro	15 Thr Thr Leu	Trp Gly Thr	
Met 1 Phe Glu Ser Glu 65	Arg Ala Gly 50	Oryne 2 Lys Asp Val 35 Lys	Ser Val 20 Ser Thr	Ile 5 Phe Lys Leu Gln	Leu Ala Gly Ala Gln 70	Ser Ser Lys Ala 55 Val	Arg Pro Asn 40 Phe Leu	Phe Thr 25 Ala Leu Asp	10 Pro Leu Trp	Val Val Ala Gly 75	Gln Val Leu 60 Thr	Glu Ala 45 Asp Pro	Gly 30 Pro Ser Val	Thr Thr Leu Pro	Trp Gly Thr Val 80	

											•				
Arg	Thr	Ala 115	Ser	Arg	Met	Gly	Leu 120	Asp	Val	Pro	Asn	Ile 125	Thr	Val	Ala
Val	Arg 130	Ser	Gly	Asp	Thr	Pro 135	Ser	Ala	Glu	Arg	Ala 140	Arg	Gln	Val	Arg
Lys 145	Pro	Pro	Asp	Ile	Leu 150	Ile	Thr	Thr	Pro	Glu 155	Ser	Ala	Tyr	Leu	Met 160
Leu	Thr	Ser	Lys	Ala 165	Gly	Ala	Thr	Leu	Ser 170	Asp	Val	Asp	Val	Val 175	Ile
Ile	Asp	Glu	Ile 180	His	Ala	Met	Ala	Gly 185	Thr	Lys	Arg	Gly	Val 190	His	Leu
Ala	Leu	Thr 195	Leu	Glu	Arg	Leu	Glu 200	Lys	Leu	Val	Gly	Arg 205	Pro	Val	Gln
Arg	Val 210	Gly	Leu	Ser	Ala	Thr 215	Val	Arg	Pro	Leu	Glu 220	Thr	Val	Ala	Gly
Phe 225	Leu	Gly	Gly	Gly	Arg 230	Pro	Val	Glu	Ile	Val 235	Ala	Pro	Pro	Ala	Glu 240
Lys	Lys	Trp	Asp	Leu 245	Thr	Val	Thr	Va1	Pro 250	Val	Glu	Asp	Met	Ser 255	Asp
Leu	Pro	Val	Gln 260	Glu	Pro	Gly	Ser	Thr 265	Ile	Gly	Glu	Leu	Val 270	Met	Asp
qzA	Pro	Leu 275	Gly	Ile	Thr	Gly	Glu 280	Ser	Ala	Leu	Pro	Thr 285	Gln	Gly	Ser
Ile	Trp 290	Pro	His	Ile	Glu	Gln 295	Gln	Val	Tyr	Asn	Gln 300	Val	Met	Ser	Ala
Lys 305	Ser	Thr	Ile	Val	Phe 310	Val	Asn	Ser	Arg	Arg 315	Ser	Ala	Glu	Arg	Leu 320
Thr	Ser	Arg	Leu	Asn 325	Glu	Ile	Trp	Ala	Met 330	Glu	His	Asp	Pro	Glu 335	Ser
Leu	Ser	Pro	Gln 340	Leu	Arg	Arg	Asp	Pro 345	Ala	Gln	Ile	Met	Ser 350	Ser	Ala
Asp	Val	Ala 355	Gly	Lys	Ala	Pro	Gln 360	Val	Ile	Ala	Arg	Ala 365	His	His	Gly
Ser	Val 370	Ser	Lys	Asp	Glu	Arg 375	Ala	Thr	Thr	Glu	Thr 380	Met	Leu	Lys	Glu
Gly 385	Arg	Leu	Arg	Ala	Val 390	Ile	Ser	Thr	Ser	Ser 395	Leu	Glu	Leu	Gly	Ile 400
Asp	Met	Gly	Ala	Val 405	Asp	Leu	Val	Ile	Gln 410	Val	Glu	Ser	Pro	Pro 415	Ser
Val	Ala	Ser	Gly 420	Leu	Gln	Arg	Val	Gly 425	Arg	Ala	Gly	His	Thr 430	Val	Gly
Ala	Thr	Ser 435	Ile	Gly	Ser	Phe	Tyr 440	Pro	Lys	His	Arg	Ser 445	Asp	Leu	Val-
Gln	Thr	Ala	Val	Thr	Val	Gln	Arg	Met	Lys	Glu	Gly	Leu	Ile	Glu	Glu

450 455 460

Ile His Val Pro Lys Asn Ala Leu Asp Val Leu Ala Gln Gln Thr Val 470 Ala Ala Val Ser Ile Lys Asp Val Gln Val Asp Glu Trp Tyr Glu Thr Ile Arg Lys Ala Tyr Pro Tyr Arg Asp Leu Ala Arg Glu Val Phe Asp 500 505 Ser Val Ile Asp Leu Val Ser Gly Val Tyr Pro Ser Thr Asp Phe Ala Glu Leu Lys Pro Arg Val Val Tyr Asp Arg Val Ser Gly Val Leu Glu 530 535 Gly Arg Pro Gly Ser Gln Arg Val Ala Val Thr Ser Gly Gly Thr Ile 550 555 Pro Asp Arg Gly Met Phe Gly Val Phe Leu Val Gly Asp Gly Pro Arg 565 570 Arg Val Gly Glu Leu Asp Glu Glu Met Val Tyr Glu Ser Arg Val Gly 585 Asp Val Phe Thr Leu Gly Ala Ser Ser Trp Arg Ile Glu Glu Ile Thr 600 Arg Asp Gln Val Leu Val Thr Pro Ala Pro Gly His Thr Gly Arg Leu 615 Pro Phe Trp Thr Gly Asp Ala Ala Gly Arg Pro Ala Glu Leu Gly Lys 630 635 Ala Leu Gly Ala Phe Arg Arg Ser Thr Leu Thr Asp Pro Ser Ser Ser 650 Gly Leu Glu Gly Trp Ala His Asp Asn Leu Ile Ala Phe Leu Gln Glu 660 665 Gln Glu Glu Ser Thr Gly Val Leu Pro Asp Glu Lys Thr Leu Val Leu 680 Glu Arg Phe Lys Asp Glu Leu Gly Asp Trp Arg Ile Val Leu His Thr Pro Tyr Gly Arg Gly Val Asn Ala Ala Trp Ala Leu Ala Val Gly Ala Lys Ile Ala Glu Glu Thr Gly Met Asp Ala Gln Ala Val Ala Gly Asp Asp Gly Ile Val Leu Arg Leu Pro Glu Gly Asp Glu Asp Pro Ser Ala Ala Leu Phe Met Phe Glu Ala Glu Glu Ile Glu Thr Leu Val Thr Glu 755 Gln Val Gly Asn Ser Ala Leu Phe Ala Ser Arg Phe Arg Glu Cys Ala 775 Ala Arg Ala Leu Leu Pro Arg Arg Asn Pro Gly Lys Arg Ala Pro 785 790 795

- Leu Trp Gln Gln Arg Gln Arg Ala Ala Gln Leu Leu Asp Val Ala Arg 805 810 815
- Lys Tyr Pro Ser Phe Pro Ile Ile Leu Glu Thr Val Arg Glu Cys Leu 820 825 830
- Gln Asp Val Tyr Asp Leu Pro Ala Leu Lys Asn Leu Ile Glu Asp Leu 835 840 845
- Gln Leu Arg Lys Val Arg Ile Ala Glu Val Thr Thr Gln Gln Pro Ser 850 855 860
- Pro Phe Ala Ser Ala Leu Leu Phe Asn Tyr Thr Gly Ala Phe Met Tyr 865 870 875 880
- Glu Gly Asp Ser Pro Leu Ala Glu Lys Arg Ala Ala Leu Ala Leu 885 890 895
- Asp Pro Ala Leu Leu Ala Lys Leu Leu Gly Glu Val Glu Leu Arg Gln 900 905 910
- Leu Leu Asp Pro Asp Ile Ile Ala Glu Val His Gln Gln Leu Arg Arg 915 920 925
- Gln Gly Asp Arg Ala Ala Arg Asn Asn Glu Glu Leu Ala Asp Ser Leu 930 935 940
- Arg Ile Leu Gly Pro Ile Pro Leu Asp Glu Leu Gly Glu His Ile Thr 945 950 955 960
- Phe Glu Asn Pro Asp Leu Glu Asp Arg Ala Met Thr Val Arg Ile Asn 965 970 975
- Gly Arg Glu His Leu Ala Gln Val Leu Asp Ala Pro Leu Leu Arg Asp 980 985 990
- Ala Leu Gly Val Pro Val Pro Pro Gly Val Pro Ala Gln Val Glu Thr 995 1000 1005
- Ile Thr Asp Ala Leu Glu Gln Leu Val Asn Arg Trp Val Arg Thr Arg 1010 1015 1020
- Gly Pro Phe Thr Ala Asn Asp Leu Ala Glu Ala Phe Gly Leu Gly Ile 1025 1030 1035 1040
- Ala Thr Ala Ile Thr Ala Leu Gln Ser Ala Pro Val Ile Glu Gly Arg 1045 1050 1055
- Tyr Arg Gln Gly Val Asp Val Gln Glu Tyr Cys Ala Thr Glu Val Leu 1060 1065 1070
- Ser Ile Ile Arg Arg Arg Ser Leu Ala Ala Arg Lys Gln Thr Arg 1075 1080 1085
- Pro Val Ser Gln Ser Ala Phe Ala Arg Phe Leu Leu Asp Trp Gln Gln 1090 1095 1100
- Ile Ala Pro Val Gly Ala Thr Pro Glu Leu Arg Gly Val Asp Gly Thr 1105 1110 1115 1120
- Tyr Thr Val Ile Glu Gln Leu Ala Gly Val Arg Leu Pro Ala Ser Ala 1125 1130 1135
- Trp Glu Asp Leu Val Leu Pro Arg Arg Val Ala Asp Tyr Ser Pro Ile

1140 1145 1150

His Leu Asp Glu Leu Thr Ser Asn Gly Glu Val Leu Ile Val Gly Ala 1155 1160 1165

Gly Gln Ala Gly Ser Arg Asp Pro Trp Ile Ser Leu Leu Pro Val Asp 1170 1180

Tyr Ala Ala Gln Leu Val Gly Glu Ala Ser Thr Ser Met Ser Pro Leu 1185 1190 1195 1200

Gln Asp Ala Val Leu Asp Gln Leu Arg Ala Gly Gly Ala Phe Leu Phe 1205 1210 1215

Ser Asp Ile Deu Glu Glu Asn Phe Gly Tyr Thr Thr Ala Gln Leu Gln 1220 1225 1230

Glu Ala Met Trp Gly Leu Val Glu Ala Gly Leu Val Ser Pro Asp Ser 1235 1240 1245

Phe Ala Pro Ile Arg Ala Arg Leu Ala Ser Gly Thr Thr Ala His Arg 1250 1255 1260

Ala Lys Arg Arg Pro Ala Arg Ser Arg Leu Arg Thr Arg Thr Ser Phe 1265 1270 1275 1280

Ala Ser Asp Val Pro Pro Asp Met Arg Gly Arg Trp Thr Leu Ser Val 1285 1290 1295

Gln Pro Ala Asp Ala Thr Ser Arg Ser Val Ala His Gly Glu Gly Trp 1300 1305 1310

Leu Asp Arg Tyr Gly Val Leu Thr Arg Gly Ser Val Val Ala Glu Asp 1315 1320 1325

Ile Val Gly Gly Phe Ala Leu Ala Tyr Lys Val Leu Ser Gly Phe Glu 1330 1335 1340

Glu Ser Gly Lys Ala Met Arg Gly Tyr Phe Ile Glu Gly Leu Gly Ala 1345 1350 1355 1360

Ala Gln Phe Ser Thr Pro Ala Ile Ile Asp Arg Leu Arg Gly His Asp 1365 1370 1375

Asp Ser Pro Asp Val Glu Gly Trp Pro Ser Gly Ala Thr Asp Pro Asp 1380 1385 1390

Val Tyr Leu Ile Ala Ala Ala Asp Pro Ala Asn Pro Tyr Gly Ala Ala 1395 1400 1405

Leu Pro Trp Pro Glu Gln Gly Pro Ser Arg Ala Ala Gly Ala Met Val 1410 1415 1420

Val Leu Cys Asp Gly Leu Leu Leu Ala His Leu Thr Arg Gly Gly Arg 1425 1430 1435 1440

Thr Leu Thr Val Phe Ser Asp Asn Ile Pro Lys Ile Ala Thr Ala Leu 1445 1450 1455

Ile Thr Tyr Glu Arg Leu Thr Val Glu Lys Ile Asn Gly Asp Asn Val 1460 1465 1470

Phe Asp Ser Pro Leu Leu Glu Gln Phe Arg Lys His Gly Ala Thr Ile 1475 1480 1485 Thr Pro Lys Gly Met Arg Phe Arg Pro Pro Val Ala Arg Glu Thr Pro 1490 1495 1500

Ser Asp Thr Leu Pro Thr Arg Thr Phe Arg Gly Gly Phe Gly Arg Arg 1505 1510 1515 1520

<210> 103 <211> 1251 <212> DNA <213> Corynebacterium glutamicum	
<220> <221> CDS <222> (1)(1251) <223> RXA07006	
<pre><400> 103 gtg tcg tct gag aaa gct tca tca aaa tca acc cct gag gca ccg tgg Val Ser Ser Glu Lys Ala Ser Ser Lys Ser Thr Pro Glu Ala Pro Trp</pre>	
cca gtc cgg gaa gta aat act caa gtc aag cag tgg att gaa cgg ctt Pro Val Arg Glu Val Asn Thr Gln Val Lys Gln Trp Ile Glu Arg Leu 20 25 30	
ggc cat ttg tgg gtg gag ggc cag ctc gct cag att aat gtg aag ccc Gly His Leu Trp Val Glu Gly Gln Leu Ala Gln Ile Asn Val Lys Pro 35 40 45	144
aat tgg aag ctg tcg tat ttg acg ctt cgt gat gtg gag caa gaa atg Asn Trp Lys Leu Ser Tyr Leu Thr Leu Arg Asp Val Glu Glu Met 50 55 60	192
tct gtg cag ctg acc tgc ccg acg gac att atc cgc aat cgc ccc aca Ser Val Gln Leu Thr Cys Pro Thr Asp Ile Ile Arg Asn Arg Pro Thr 65 70 75 80	240
ccg ctc aag gat ggc gac cgc gtg att gtg tac ggc aag ccc gcg ttt Pro Leu Lys Asp Gly Asp Arg Val Ile Val Tyr Gly Lys Pro Ala Phe 85 90 95	288
tat gca ggc cgc ggc act ttt tcg ctg tgg gtg act gat atc cgt ccc Tyr Ala Gly Arg Gly Thr Phe Ser Leu Trp Val Thr Asp Ile Arg Pro 100 105 110	336
gtg ggt att ggt gag ttg ctg gcg cgc att gag gag ctg cgt aaa agg Val Gly Ile Gly Glu Leu Leu Ala Arg Ile Glu Glu Leu Arg Lys Arg 115 120 125	384
ctt gcc gcg gag ggt ctt ttt gat cca gct cgg aag aag cga ctg cca Leu Ala Ala Glu Gly Leu Phe Asp Pro Ala Arg Lys Lys Arg Leu Pro 130 135 140	432
ttt ctg ccc aac cgc gtt ggt ttg atc acg gga cgt ggt tca gcg gct Phe Leu Pro Asn Arg Val Gly Leu Ile Thr Gly Arg Gly Ser Ala Ala 145 150 155 160	480
gag cgc gat gtg ctg agc gtg gct aag gat cgc tgg ccg gaa gtg cag Glu Arg Asp Val Leu Ser Val Ala Lys Asp Arg Trp Pro Glu Val Gln	528

165 170 175

					22									Δ,	5	
ttt Phe	gag Glu	gtg Val	ato . Ile 180	Asr	acg Thr	gca Ala	gtt Val	cag Glr 185	Glz	gct Ala	tca Ser	a gct Ala	gt: Val 190	l Pro	gaa Glu	576
ato Ile	ato Ile	gaa Glu 195	Ala	, ttg Lev	ı cgg	gtt Val	tta Leu 200	. Asp	caç Glr	gac Asp	cct Pro	cgc Arg 205	Val	gat Asp	gtc Val	624
atc Ile	atc Ile 210	: Ile	gcc Ala	cgc Arg	ggc Gly	ggc Gly 215	Gly	tct Ser	gtg Val	gag Glu	gat Asp 220	Leu	Cto	ccc Pro	ttc Phe	672
tct Ser 225	Glu	gag Glu	gcc Ala	ttg Leu	cag Gln 230	cgc Arg	gca Ala	gtc Val	gcg Ala	gca Ala 235	Ala	cag Gln	acg Thr	ccc Pro	gtg Val 240	720
gtg Val	tcc Ser	gcg Ala	att Ile	ggc Gly 245	cac His	gaa Glu	cca Pro	gat Asp	acg Thr 250	ccg Pro	gtg Val	ttg Leu	gac Asp	aat Asn 255	Val	768
gcc Ala	gac Asp	ctt Leu	cgc Arg 260	gcg Ala	gcg Ala	acc Thr	ccg Pro	acc Thr 265	gat Asp	gca Ala	gca Ala	aag Lys	cgc Arg 270	gtg Val	gtg Val	816
cct Pro	gat Asp	gtg Val 275	gca Ala	gaa Glu	gaa Glu	cgc Arg	atg Met 280	ttg Leu	atc Ile	aat Asn	cag Gln	ctt Leu 285	cgc Arg	agt Ser	cgt Arg	864
agt Ser	gcc Ala 290	gcg Ala	gcg Ala	ttg Leu	cgc Arg	ggt Gly 295	tgg Trp	gtg Val	cag Gln	cgc Arg	gag Glu 300	cag Gln	cag Gln	gcg Ala	ttg Leu	912
gca Ala 305	gcg Ala	att Ile	cgc Arg	acc Thr	agg Arg 310	ccg Pro	gtg Val	ctg Leu	gct Ala	gat Asp 315	ccg Pro	atg Met	acc Thr	ccg Pro	att Ile 320	960
aac Asn	cgc Arg	cga Arg	cgt Arg	gat Asp 325	gag Glu	att Ile	gcc Ala	cag Gln	gct Ala 330	gtg Val	ggc Gly	ttg Leu	att Ile	agg Arg 335	cgc Arg	1008
gat Asp	gtc Val	acc Thr	cat His 340	ctc Leu	gtc Val	cgc Arg	acc Thr	gag Glu 345	caa Gln	gca Ala	ctg Leu	Val	gcg Ala 350	tcg Ser	ttg Leu	1056
cgc Arg	gca Ala	cag Gln 355	gtt Val	tcc Ser	gcg Ala	Leu	ggc Gly 360	ccg Pro	tcc Ser	gca Ala	acc Thr	ttg Leu 365	gcg Ala	cgc Arg	ggt Gly	1104
tat Tyr	tcc Ser 370	gtg Val	gtg Val	cag Gln	Val	att Ile 375	cct Pro	cgc Arg	gac Asp	Gly	agc Ser 380	gcc Ala	ccg Pro	gaa Glu	gtg Val	1152
gtc Val 385	acc Thr	acc . Thr	atc Ile	Glu	caa Gln 390	tca Ser	ccg Pro	ccc Pro	Gly	agc Ser 395	cag Gln	ctg Leu :	cgc Arg	atc Ile	cgc Arg 400	1200
gtt g Val 2	gcc Ala	gac (Asp (Gly	tcc Ser 405	atc . Ile '	act (gcg Ala	Ala	tcc Ser 410	atg Met	ggc Gly	acc (Thr (Gln	caa Gln 415	gca Ala	1248
aac																1251

Asn

<210> 104 <211> 417 <212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum

<400> 104

Val Ser Ser Glu Lys Ala Ser Ser Lys Ser Thr Pro Glu Ala Pro Trp
1 5 10 15

Pro Val Arg Glu Val Asn Thr Gln Val Lys Gln Trp Ile Glu Arg Leu 20 25 30

Gly His Leu Trp Val Glu Gly Gln Leu Ala Gln Ile Asn Val Lys Pro 35 40 45

Asn Trp Lys Leu Ser Tyr Leu Thr Leu Arg Asp Val Glu Glu Met 50 60

Ser Val Gln Leu Thr Cys Pro Thr Asp Ile Ile Arg Asn Arg Pro Thr 65 70 75 80

Pro Leu Lys Asp Gly Asp Arg Val Ile Val Tyr Gly Lys Pro Ala Phe 85 90 95

Tyr Ala Gly Arg Gly Thr Phe Ser Leu Trp Val Thr Asp Ile Arg Pro 100 105 110

Val Gly Ile Gly Glu Leu Leu Ala Arg Ile Glu Glu Leu Arg Lys Arg 115 120 125

Leu Ala Ala Glu Gly Leu Phe Asp Pro Ala Arg Lys Lys Arg Leu Pro 130 135 140

Phe Leu Pro Asn Arg Val Gly Leu Ile Thr Gly Arg Gly Ser Ala Ala 145 150 155 160

Glu Arg Asp Val Leu Ser Val Ala Lys Asp Arg Trp Pro Glu Val Gln 165 170 175

Phe Glu Val Ile Asn Thr Ala Val Gln Gly Ala Ser Ala Val Pro Glu 180 185 190

Ile Ile Glu Ala Leu Arg Val Leu Asp Gln Asp Pro Arg Val Asp Val 195 200 205

Ile Ile Ile Ala Arg Gly Gly Gly Ser Val Glu Asp Leu Leu Pro Phe 210 215 220

Ser Glu Glu Ala Leu Gln Arg Ala Val Ala Ala Ala Gln Thr Pro Val 225 230 235 240

Val Ser Ala Ile Gly His Glu Pro Asp Thr Pro Val Leu Asp Asn Val 245 250 255

Ala Asp Leu Arg Ala Ala Thr Pro Thr Asp Ala Ala Lys Arg Val Val 260 265 270

Pro Asp Val Ala Glu Glu Arg Met Leu Ile Asn Gln Leu Arg Ser Arg 275 280 285 WO 03/040180 PCT/EP02/12138

Ser Ala Ala Ala Leu Arg Gly Trp Val Gln Arg Glu Gln Gln Ala Leu 290 295 300

Ala Ala Ile Arg Thr Arg Pro Val Leu Ala Asp Pro Met Thr Pro Ile 305 310 315 320

Asn Arg Arg Arg Asp Glu Ile Ala Gln Ala Val Gly Leu Ile Arg Arg 325 330 335

Asp Val Thr His Leu Val Arg Thr Glu Gln Ala Leu Val Ala Ser Leu 340 345 350

Arg Ala Gln Val Ser Ala Leu Gly Pro Ser Ala Thr Leu Ala Arg Gly 355 360 365

Tyr Ser Val Val Gln Val Ile Pro Arg Asp Gly Ser Ala Pro Glu Val 370 375 380

Val Thr Thr Ile Glu Gln Ser Pro Pro Gly Ser Gln Leu Arg Ile Arg 385 390 395 400

Val Ala Asp Gly Ser Ile Thr Ala Ala Ser Met Gly Thr Gln Gln Ala 405 410 415

Asn

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum Internationales Büro





(43) Internationales Veröffentlichungsdatum 15. Mai 2003 (15.05.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer WO 2003/040180 A3

- (51) Internationale Patentklassilikation⁷: C07K 14/34, C12P 13/08, C12Q 1/68, C12N 15/63, 15/77, 1/21, C12P 1/04 // C12R 1/15
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2002/012138
- (22) Internationales Anmeldedatum:

31. Oktober 2002 (31.10.2002)

(25) Einreichungssprache:

Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache:

Deutsch

- (30) Angaben zur Priorität: 101 54 180.5 5. November 2001 (05.11.2001) DF
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; 67056 Ludwigshafen (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): ZELDER, Oskar [DE/DE]; Franz-Stützel-Str. 8, 67346 Speyer (DE). POMPEJUS, Markus [DE/DE]; Wenjenstr. 21, 67251 Freinsheim (DE). SCHRÖDER, Hartwig [DE/DE]; Benzstr. 4, 69226 Nussloch (DE). KRÖGER, BURKHARD [DE/DE]; Im Waldhof 1, 67117 Limburgerhof (DE). KLOPPROGGE, Corinna [DE/DE]; Rastatter Strasse 10, 68239 Mannheim (DE). HABERHAUER, Gregor [DE/DE]; Moselstrasse 42, 67117 Limburgerhof (DE).

- (74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGE-SELLSCHAFT; 67056 Ludwigshafen (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL. AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL. IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 1. April 2004

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: GENES OF CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM ENCODING FOR GENETIC STABILITY, GENE EXPRESSION AND FOLDING PROTEINS

(54) Bezeichnung: GENE VON CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM, DIE FÜR GENETISCHE STABILITÄTS-, GENEX-PRESSIONS- UND FALTUNGSPROTEINE KODIEREN

- (57) Abstract: The invention relates to nucleic acid molecules of Corynebacterium glutamicum, to the use thereof in the construction of genetically improved microorganisms and to a method for producing fine chemical products, in particular amino acids, by means of said genetically improved microorganisms.
- (57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft neue Nukleinsäuremoleküle von Corynebacterium glutamicum, deren Verwendung zur Konstruktion von gentechnisch verbesserten Mikroorganismen und Verfahren zur Herstellung von Feinchemikalien, insbesondere Aminosäuren mit Hilfe dieser gentechnisch verbesserten Mikroorganismen.



040180

RNATIONAL SEARCH REPORT

onal Application No PCT/EP 02/12138

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07K14/34 C12P13/08 C12N1/21 C12P1/04 //C12R1/15

C12Q1/68

C12N15/63

C12N15/77

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

 $\begin{array}{ll} \mbox{Minimum documentation searched} & \mbox{(classification system followed by classification symbols)} \\ \mbox{IPC 7} & \mbox{C07K} & \mbox{C12N} & \mbox{C12P} & \mbox{C12Q} \\ \end{array}$

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBL, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of	the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 108 790 A (KYOWA HAKKO K 20 June 2001 (2001-06-20) Seq. ID No. 5415 und 1915; Nu wichtigsten Abschnitte der An wurden als Kopie beigelegt. page 136; claims 9,12,13,15,5 figure 4	n die meldung	1-8
P,X	DATABASE EMBL [Online] Genomi v. Corynebacterium glutamicum 5 June 2002 (2002-06-05), XP002238867 accession no. EMB Database accession no. AP0052 Nur der Anfang des Datenbanke als Kopie beigelegt.	i L 79	1-8
X Furti	her documents are listed in the continuation of box C.	Patent family members are listed	in annex.
"A" docume consid "E" earlier of filing d "L" docume which citation "O" docume other r "P" docume	ent which may throw doubts on priority claim(s) or is cited to establish the publication date of another n or other special reason (as specified) ent referring to an oral disclosure, use, exhibition or	"T" later document published after the inte or priority date and not in conflict with cited to understand the principle or th invention "X" document of particular relevance; the cannot be considered novel or canno involve an inventive step when the document of particular relevance; the cannot be considered to involve an indocument is combined with one or ments, such combination being obvion in the art. "&" document member of the same patent	the application but early underlying the slaimed invention to considered to coument is taken alone slaimed invention ventive step when the ore other such docuus to a person skilled
Date of the	actual completion of the international search	Date of mailing of the international sea	arch report
2	9 April 2003	22.06.	2003
Name and n	nalling address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epc nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Griesinger, I	



Internal Application No
PCT/EP 02/12138

		PCI/EP 02/12138
C.(Continu	ation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BATHE B ET AL: "A PHYSICAL AND GENETIC MAP OF THE CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM ATCC 13032 CHROMOSOME" MOLECULAR AND GENERAL GENETICS, SPRINGER VERLAG, BERLIN,, DE, vol. 252, no. 3, 1996, pages 255-265, XP000942283 ISSN: 0026-8925 abstract; figure 4; table 3	1-8
A		1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Box! Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first she	eet)
This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following	; reasons:
Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:	
Claims Nos.: because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to san extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:	such
3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule	6.4(a).
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:	
see additional sheet	
As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.	
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite pay of any additional fee.	rment representation of the second se
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Repo	ort
4. X No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-8 (jeweils zum Teil)	tis
Remark on Protest The additional search fees were accompanied by the applicant's No protest accompanied the payment of additional search fees.	•

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, namely

Inventions 1-4: Claims 1-8 (in part)

amino acid sequence of Seq. Id. No. 2 or the corresponding nucleotide sequence of Seq. Id. No. 1 as well as variants of these sequences and the uses of these sequences in vectors and host cells and for producing organic compounds.

1.1 Claims 1-8 (in part)

amino acid sequence of Seq. Id. No. 2 and the corresponding nucleotide sequence as well as uses of these sequences in vectors and host cells and for producing organic compounds.

1.2 Claims 1-8 (in part)

amino acid sequence of Seq. Id. No. 2 wherein proline is replaced by serine at position 337 and the corresponding nucleotide sequence as well as uses of these sequences in vectors and host cells and for producing organic compounds.

1.3 Claims 1-8 (in part)

amino acid sequence of Seq. Id. No. 2 wherein threonine is replaced by isoleucine at position 405 and the corresponding nucleotide sequence as well as uses of these sequences in vectors and host cells and for producing organic compounds.

1.4 Claims 1-8 (in part)

amino acid sequence of Seq. Id. No. 2 wherein proline is replaced by serine at position 504 and the corresponding

nucleotide sequence as well as uses of these sequences in vectors and host cells and for producing organic compounds.

Inventions 5-55: Claims 1-8 (in part)

sequences of Seq. Id. No. 3-104 as well as uses of these sequences in vectors and host cells and for producing organic compounds, the nucleotide sequence and the derived amino acid sequence in each case belonging to the same group.

Please note that all the inventions specified under point 1, though not necessarily linked by a common inventive concept, could be searched in full without entailing added effort that would have justified an additional search fee.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Interior Paris Application No PCT/EP 02/12138

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
EP 1108790	A	20-06-2001	EP JP US	1108790 A2 2002191370 A 2002197605 A1	20-06-2001 09-07-2002 26-12-2002
DE 19929365	A	28-12-2000	DE AU WO	19929365 A1 6428900 A 0100802 A2	28-12-2000 31-01-2001 04-01-2001

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

onales Aktenzeichen
PCT/EP 02/12138

. Klassifizierung des anmeldungsgegenstandes PK 7 C07K14/34 C12P13/08 A. KLAS IPK 7 C12N15/63 C12N15/77 C1201/68 //C12R1/15 C12N1/21 C12P1/04 Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nafionalen Klassifikation und der IPK B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikafionssystem und Klassifikafionssymbole) C07K C12N C12P IPK 7 C120 Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBL, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN Kategorle® Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unfer Angabe der in Betracht kommenden Teile Betr. Anspruch Nr. EP 1 108 790 A (KYOWA HAKKO KOGYO KK) 1-8 χ 20. Juni 2001 (2001-06-20) Seq. ID No. 5415 und 1915; Nur die wichtigsten Abschnitte der Anmeldung wurden als Kopie beigelegt. Seite 136; Ansprüche 9,12,13,15,51-54,63,64; Abbildung 4 P,X DATABASE EMBL 'Online! 1-8 Genomische Sequenz v. Corynebacterium glutamicum, 5. Juni 2002 (2002-06-05) retrieved from EMBL Database accession no. AP005279 XP002238867 Nur der Anfang des Datenbankeintrags wurde als Kopie beigelegt. Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu Siehe Anhang Patentfamilie χ entnehmen "T" Spätere Veröffenflichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder cem Prioritärsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Besondere Kafegorlen von angegebenen Veröffentlichungen "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist Anme dung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben Ist "E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedafum veröffentlicht worden ist "X" Veröffenflichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, elnen Prioritätsanspruch zweifelhatt erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden "y-Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie kann nicht als auf erfinderischer Täfigkeit berühend betrachtef werden, wenn die Veröffentlichung mif einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kafegone in Verbindung gebracht wird und "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Priorifäfsdatum veröffentlicht worden ist diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamille Isf Absendedatum des infernaflonalen Recherchenberichts Datum des Abschlusses der internationalen Recherche **2** 0. 06. 03 29. April 2003 Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Bevollmächtigter Bedienstete Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016 Griesinger, I

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In ionales Aktenzeichen
PCT/EP 02/12138

		PCT/EP C	2/12138		
(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN					
tegorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht komm	nenden Telle	Betr. Anspruch Nr.		
A	BATHE B ET AL: "A PHYSICAL AND GENETIC MAP OF THE CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM ATCC 13032 CHROMOSOME" MOLECULAR AND GENERAL GENETICS, SPRINGER VERLAG, BERLIN,, DE, Bd. 252, Nr. 3, 1996, Seiten 255-265, XP000942283 ISSN: 0026-8925 Zusammenfassung; Abbildung 4; Tabelle 3		1-8		
P. C.	Zusammenfassung; Abbildung 4; Tabelle 3 DE 199 29 365 A (BASF LYNX BIOSCIENCE AG) 28. Dezember 2000 (2000-12-28) Zusammenfassung; Ansprüche 1-4		1-8		

rnationales Aktenzelchen PCT/EP 02/12138

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt
Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:
1. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Flecherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Telle der Internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle Internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.
Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)
Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:
siehe Zusatzblatt
Da der Anmelder alle erforderlichen zusätztichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierberen Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. Ansprüche Nr.
Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeltig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt: 1-8 (jeweils zum Teil)
Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt. Die Zahtung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

Erfindungen 1-4: Ansprüche 1-8 (jeweils zum Teil)

Aminosäuresequenz mit der Seq. ID No. 2 bzw. die entsprechende Nukleotidsequenz mit der Seq. ID No. 1, sowie Varianten dieser Sequenzen und die Verwendungen dieser Sequenzen in Vektoren, Wirtszellen und zur Herstellung von organischen Verbindungen.

- 1.1. Ansprüche: 1-8 (jeweils zum Teil)
 Aminosäuresequenz mit der Seq. ID No. 2 und die entsprechende Nukleotidsequenz, sowie Verwendungen dieser Sequenzen in Vektoren, Wirtszellen und zur Herstellung von organischen Verbindungen.
- 1.2. Ansprüche: 1-8 (jeweils zum Teil)
 Aminosäuresequenz mit der Seq. ID No. 2, wobei an der Position 337 Serin statt Prolin vorliegt, und die entsprechende Nukleotidsequenz, sowie Verwendungen dieser Sequenzen in Vektoren, Wirtszellen und zur Herstellung von organischen Verbindungen.
- 1.3. Ansprüche: 1-8 (jeweils zum Teil)
 Aminosäuresequenz mit der Seq. ID No. 2, wobei an der
 Position 405 Isoleucin statt Threonin vorliegt, und
 die entsprechende Nukleotidsequenz, sowie Verwendungen
 dieser Sequenzen in Vektoren, Wirtszellen und zur
 Herstellung von organischen Verbindungen.
- 1.4. Ansprüche: 1-8 (jeweils zum Teil)
 Aminosäuresequenz mit der Seq. ID No. 2, wobei an der
 Position 504 Serin statt Prolin vorliegt, und die
 entsprechende Nukleotidsequenz, sowie Verwendungen
 dieser Sequenzen in Vektoren, Wirtszellen und zur
 Herstellung von organischen Verbindungen.

Erfindungen 5-55: Ansprüche 1-8 (jeweils zum Teil)

Sequenzen mit der Seq. ID No. 3-104, sowie Verwendungen dieser Sequenzen in Vektoren, Wirtszellen und zur Herstellung von organischen Verbindungen, wobei jeweils die Nukleotidsequenz und die abgeleitete Aminosäuresequenz zur gleichen Gruppe gehören.

Bitte zu beachten daß für alle unter Punkt 1 aufgeführten Erfindungen, obwohl diese nicht unbedingt durch ein gemeinsames erfinderisches

WEITERE ANGABEN	PCT/IS	A/	210	
Konzept verbun Recherchengebü durchgeführt w	den sind, ohne Mehrau hr gerechtfertigt hät erden konnte.	fwan te,	nd der eine zusätzliche eine vollständige Recherche	
÷				

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Interponales Aktenzeichen
PCT/EP 02/12138

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdckument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 1108790	Α	20-06-2001	EP JP US	1108790 A2 2002191370 A 2002197605 A1	20-06-2001 09-07-2002 26-12-2002
DE 19929365	Α	28-12-2000	DE AU WO	19929365 A1 6428900 A 0100802 A2	28-12-2000 31-01-2001 04-01-2001